

В. Е. ПРЕДТЕЧЕНСКИЙ  
В. М. БОРОВСКАЯ, Л. Т. МАРГОЛИНА

ЛАБОРАТОРНЫЕ  
МЕТОДЫ  
ИССЛЕДОВАНИЯ

МЗД-73-1950



В. Е. ПРЕ

ПО Л



В. Е. ПРЕДТЕЧЕНСКИЙ, В. М. БОРОВСКАЯ, Л. Т. МАРГОЛИНА

# РУКОВОДСТВО ПО ЛАБОРАТОРНЫМ МЕТОДАМ ИССЛЕДОВАНИЯ

ИЗДАНИЕ ЧЕТВЕРТОЕ,  
ПЕРЕСМОТРЕННОЕ И ДОПОЛНЕННОЕ

ПОД РЕДАКЦИЕЙ  
Л. Г. СМИРНОВОЙ и Е. А. КОСТ

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО  
МЕДИЦИНСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ  
МЕДГИЗ — 1950 — МОСКВА



В. П. ЛЕВЧЕНКО, А. М. ГОРЮХИНА, М. С. ЛЕВЧЕНКО

РАБОТЫ

НАД ОТЕЧЕСТВЕННЫМ РАБОТНИКОМ

РАБОТНИКОМ

Д  
проме  
област  
как д  
лечени  
послед  
работат  
актуаль  
Одн  
микроби  
биологич  
общих у  
введен с  
дования  
клиники,  
может бы  
ческой ла  
исследован  
амидах и  
В разд  
ния цитоло  
Особое  
лабораторно  
переработан  
клеток нов  
танный про  
Во все  
институтов  
(проф. Мо  
токсических  
методам, пр  
ских наук  
Институте и



## ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие . . . . .	3
-----------------------	---

### ОТДЕЛ ПЕРВЫЙ

#### КРОВЬ

#### Глава первая

#### Морфологическое исследование крови

Общие замечания к морфологическому исследованию крови . . . . .	5
Определение количества гемоглобина . . . . .	8
Подсчет форменных элементов в камере . . . . .	12
1) Счетные камеры . . . . .	12
2) Сетки . . . . .	13
3) Смесители . . . . .	15
4) Разводящие жидкости . . . . .	16
5) Техника взятия крови в смеси . . . . .	17
6) Техника наполнения камеры и подсчета форменных элементов . . . . .	18
7) Пределы точности подсчета форменных элементов крови . . . . .	20
Окраска мазков . . . . .	21
1) Техника приготовления мазка . . . . .	21
2) Фиксация мазка . . . . .	22
3) Окраска азур-эозиновыми смесями . . . . .	23
4) Окраска ретикулоцитов . . . . .	25
а) Суправитальная (агональная) окраска. б) Счисление ретикулоцитов. в) Диагностическое значение	28
5) Окраска базофильной зернистости эритроцитов . . . . .	28
а) Техника окраски. б) Диагностическое значение	28
6) Окраска телец Гейнца . . . . .	29
7) Оксидазная и пероксидазная реакции . . . . .	30
8) Токсическая зернистость нейтрофильных лейкоцитов . . . . .	30
а) Окраска по Фрейфельд. б) Окраска по Момсену. в) Окраска по Шмелеву	32
Изучение окрашенного мазка . . . . .	33
1) Красная кровь . . . . .	33
2) Белая кровь . . . . .	34
3) Техника подсчета лейкоцитарной формулы . . . . .	35
а) Нейтрофильные лейкоциты. б) Эозинофильные лейкоциты. в) Базофильные лейкоциты. г) Лимфоциты. д) Моноциты. е) Моноцитарная система по Григоровой. ж) Эндотелиальные клетки. з) Клетки раздражения Тюрка. и) Плазматические клетки	43
4) Тромбоциты . . . . .	45
Картина крови при некоторых заболеваниях . . . . .	45
1) Болезни кроветворных органов . . . . .	45
а) Агранулоцитоз. б) Пернициозная анемия. в) Острая гемолитическая анемия. г) Полицитемия. д) Лейкемии. е) Ангина с лимфоцитарной и моноцитарной реакцией. ж) Болезнь Верльгофа. з) Гемофилия. и) Болезнь Шейнлейн-Геноха	49
2) Анемия при различных заболеваниях . . . . .	49
а) Анемии после кровотечений. б) Анемия при нефрите. в) Раковые анемии. г) Малокровие у беременных женщин. д) Хлороз. е) Ахилическая анемия	49



3) Инфекционные и воспалительные процессы . . . . .	51
а) Крупозная пневмония. б) Брюшной тиф. в) Паратифы. г) Сып- ной тиф. д) Скарлатина. е) Корь. ж) Краснуха. з) Коклюш. и) Оспа. к) Дифтерия. л) Подострый эндокардит, вызванный зеленеющим стреп- тококком. м) Лимфогрануломатоз. н) Грипп. о) Сепсис. п) Тубер- кулез. р) Малярия. с) Аппендицит	
Пункция костного мозга . . . . .	55

## Глава вторая

### Исследование крови на наличие простейших и спирохет

А. Простейшие . . . . .	56
1. Плазмодии малярии . . . . .	57
1) Цикл развития . . . . .	57
2) Виды плазмодиев . . . . .	59
а) <i>Plasmodium vivax</i> — паразит трехдневной лихорадки. б) <i>Plasmo-</i> <i>dium malariae</i> — паразит четырехдневной лихорадки. в) <i>Plasmodium tal-</i> <i>ciparum</i> — паразит тропической лихорадки. г) <i>Plasmodium ovale</i>	
3) Исследование плазмодиев в толстой капле . . . . .	62
4) Исследование в мазках . . . . .	65
5) Специальные способы окраски . . . . .	65
а) Способ Щуренковой. б) Способ Мойжовского	
6) Реакция меланофлюкуляции при малярии . . . . .	67
2. Трипаномы . . . . .	68
а) <i>Trypanosoma gambiense</i> — возбудитель африканского трипано- сомиоза. б) <i>Schizotrypanum cruzi</i> (Chagas) — возбудитель американского трипаномиоза	
3. Лейшмании . . . . .	69
1) Морфология . . . . .	70
2) Исследование пунктата грудины . . . . .	70
3) Формоловая реакция (Гатепапакоста) . . . . .	70
Б. Спирохеты возвратного тифа . . . . .	71

## Глава третья

### Реакция связывания комплемента и осадочные реакции

Реакция Вассермана . . . . .	73
1) Посуда и предметы оборудования . . . . .	74
2) Приготовление отдельных ингредиентов . . . . .	75
а) Физиологический раствор. б) Эритроциты барана. в) Гемолити- ческая сыворотка. г) Комплемент. д) Антиген. е) Заведомо сифилис- ческие и нормальные сыворотки. ж) Кровь больного	
3) Основной опыт . . . . .	83
4) Реакция Вассермана со спинномозговой жидкостью . . . . .	84
5) Активные модификации реакции Вассермана . . . . .	85
а) Метод Григорьева-Раппопорт. б) Упрощенный активный метод Вайнштейн-Резниковой	
Осадочные реакции (реакция преципитации) . . . . .	87
1) Реакция просветления Мейнике (MKR) . . . . .	87
2) Цитохоловая реакция Заке-Витебского . . . . .	88
3) Реакция Кана . . . . .	89
4) Оценка осадочных реакций . . . . .	90
Диагностическое значение серологических реакций при сифилисе . . . . .	90
Реакция Вейнберга при эхинококкозе . . . . .	91
Реакция Борде-Жангу при гонорее . . . . .	92
Реакция связывания комплемента при риносклероме . . . . .	94
Реакция связывания комплемента при бруцеллезе . . . . .	94
Реакция связывания комплемента с другими бактериальными антигенами . . . . .	95
Реакция связывания комплемента при цистицеркозе . . . . .	95
Модификации реакции связывания комплемента . . . . .	96
1) Модификация Калинина и Гинзбург . . . . .	97
2) Модификация Каупа . . . . .	98
3) Длительное холодное связывание комплемента . . . . .	98
4) Количественные методы реакции связывания комплемента . . . . .	98
Реакция Пауль-Бунделя при инфекционном мононуклеозе . . . . .	98



## Глава четвертая

### Определение групп крови

Группы крови системы А, В, О . . . . .	100
1) Характеристика групп . . . . .	100
2) Методика определения . . . . .	100
а) Эритроциты исследуемого лица. б) Стандартные сыворотки.	
в) Стандартные эритроциты. г) Ход определения	
3) Возможные погрешности при определении . . . . .	102
4) Подгруппы . . . . .	103
5) Источники ошибок . . . . .	103
6) Перекрестная проба на совместимость . . . . .	104
7) Клиническое значение определения групп . . . . .	104
Резус-фактор . . . . .	104

## Глава пятая

### Физико-химическое исследование крови

Определение сухого остатка крови . . . . .	106
Определение скорости свертывания крови . . . . .	107
1) По Ситковскому-Егорову . . . . .	108
2) По Фрейфельд . . . . .	109
3) По Бюркеру . . . . .	109
4) По Мас и Магро . . . . .	110
5) По Шульцу . . . . .	111
6) По Фонио . . . . .	111
Определение растяжимости и сопротивляемости сгустка . . . . .	111
Определение «валентности» крови . . . . .	112
Определение ретракции кровяного сгустка . . . . .	113
Определение протромбина (принцип Квика) . . . . .	113
Определение протромбина по модификации проф. Кудряшева . . . . .	114
Определение протромбина по модификации Д. П. Боровской . . . . .	115
Определение количества фибрин-фермента . . . . .	116
Определение фибриногена . . . . .	117
Определение продолжительности кровотечения . . . . .	117
Методика способов вызывания сосудистых феноменов . . . . .	117
Определение вязкости крови . . . . .	118
Определение объема эритроцитов . . . . .	120
Определение резистентности эритроцитов . . . . .	121
Определение скорости оседания эритроцитов . . . . .	122
1) Микроспособ Панченкова . . . . .	123
2) Способ Вестергрена . . . . .	123
3) Источники ошибок . . . . .	124
4) Диагностическое значение . . . . .	125

## Глава шестая

### Химическое исследование крови

А. Общие указания по химическому исследованию . . . . .	126
Подготовка посуды для химического исследования . . . . .	126
1) Мытье стеклянной посуды . . . . .	126
2) Проверка мерной стеклянной посуды . . . . .	127
3) Очистка ртути . . . . .	129
4) Промывание фильтров с пластинкой из стекла . . . . .	129
5) Краны бюреток . . . . .	130
6) Резиновые пробки и трубки . . . . .	130
Приготовление и хранение точных растворов . . . . .	130
1) Приготовление нормального раствора соляной кислоты . . . . .	132
2) Приготовление децинормального раствора янтарной кислоты . . . . .	133
3) Приготовление децинормального раствора едкого натра . . . . .	133
4) Приготовление децинормального раствора марганцовокислого калия . . . . .	134
5) Приготовление децинормального раствора щавелевой кислоты или щавелево-кислого натрия . . . . .	135
6) Приготовление децинормального раствора гипосульфита натрия . . . . .	135
7) Приготовление децинормального раствора иодноватокислого калия или дву- . . . . .	136



8) Приготовление децинормального раствора иода	136
9) Приготовление молярных растворов фосфатов	136
Приготовление буферных смесей	137
1) Фосфатные буферные смеси	137
2) Ацетатные буферные смеси	138
3) Кислая буферная смесь	138
4) Барбитуровые буферные смеси	138
Приготовление индикаторов	139
Несколько замечаний к пользованию весами	139
1) Пользование аналитическими весами	139
2) Пользование торзионными (крутильными) весами	140
Колориметрия	141
1) Компаратор	141
2) Колориметр Дюбоска	141
3) Колориметр Аутенрига	144
4) Калибровка клина	146
Фотометрия	146
1) Принцип устройства фотометра	146
2) Осветительная часть прибора	147
3) Оптическая часть прибора	148
4) Ход фотометрирования	150
5) Вычисление	151
Предупреждение свертывания	152
Получение безбелкового фильтрата	155
1) Осаждение трихлоруксусной кислотой	155
2) Осаждение вольфрамовой кислотой по Фолину и др.	156
3) Осаждение фосфорно-молибденовой кислотой	157
Б. Химическое исследование крови и его значение	159
Определение сахара	159
1) Способ Хагедорна и Иенсена	159
2) Диагностическое значение	162
Определение молочной кислоты	164
1) Описание аппарата	165
2) Ход определения	165
3) Диагностическое значение	167
Определение пировиноградной кислоты	167
Диагностическое значение	168
Определение ацетоновых тел и $\beta$ -оксимасляной кислоты	168
Диагностическое значение	170
Количественное определение белков сыворотки	170
1) Рефрактометрический способ	170
а) Описание прибора. б) Определение общего количества белка.	
в) Определение белковых фракций	
2) Нефелометрический способ	176
а) Описание прибора. б) Определение альбуминов и глобулинов	
3) Диагностическое значение	179
Определение остаточного азота	179
1) Определение остаточного азота по Кьельдалю	180
а) Полумикроопределение. б) Микроопределение. в) Определение азота в специальном аппарате. г) Микроопределение азота без перегонки	
2) Микроопределение остаточного азота колориметрическим способом (по Аселю)	186
3) Диагностическое значение	189
Определение азота аминокислот	190
1) Колориметрическое определение	190
2) Газометрическое определение по ван Слайку	192
Определение полипептидов	195
Определение мочевины	198
1) По способу с урезкой	198
2) По способу с бромистой щелочью	200
Определение креатинина и креатина	202
Диагностическое значение	204
Ксантопротеиновая реакция	205
Диагностическое значение	205
Определение индикана	206
Диагностическое значение	207
Определение мочевой кислоты	207



1) Полумикроопределение . . . . .	208
а) По новому способу. б) По старому способу . . . . .	
2) Микроспособ определения по Бенедикту . . . . .	211
3) Диагностическое значение . . . . .	212
Определение холестерина . . . . .	212
1) По способу Аутенрита и Функа . . . . .	212
2) По способу Энгельгардта и Смирновой . . . . .	213
3) Диагностическое значение . . . . .	215
Определение фосфатов . . . . .	215
1) По способу Белл-Дойзи-Бриггса . . . . .	216
2) По способу Фиске и Себерроу . . . . .	217
3) Микроопределение неорганического фосфора с хлористым оловом . . . . .	218
4) Фосфор липоидов (лецитин) . . . . .	220
5) Диагностическое значение . . . . .	220
Определение хлора . . . . .	221
1) По способу Рушняка . . . . .	221
2) Иодометрический способ (Прикладовицкого и Аполлонова) . . . . .	222
3) Диагностическое значение . . . . .	223
Определение кальция . . . . .	223
Диагностическое значение . . . . .	226
Определение калия . . . . .	227
Диагностическое значение . . . . .	229
Определение натрия . . . . .	229
Определение железа в сыворотке и плазме . . . . .	231
1) Определение общего железа . . . . .	231
2) Определение легко отщепляющегося железа . . . . .	232
3) Диагностическое значение . . . . .	232
Ферменты крови . . . . .	233
1) Определение липазы . . . . .	233
а) Определение общего количества липазы. б) Определение атоксил-резистентной липазы . . . . .	
2) Определение каталазы . . . . .	234
3) Определение диастазы (амилазы) по Энгельгардту и Герчуку . . . . .	235
4) Определение фосфатазы . . . . .	237
а) Фосфатаза щелочная. б) Фосфатаза кислая . . . . .	
Распознавание амилоида . . . . .	238
Определение газов крови . . . . .	240
1) Определение щелочного резерва плазмы по ван Слайку . . . . .	240
Диагностическое значение . . . . .	244
2) Определение кислорода крови в манометрическом аппарате ван Слайка . . . . .	247
а) Определение кислородной емкости крови. б) Определение степени насыщения крови кислородом. в) Диагностическое значение . . . . .	

## ОТДЕЛ ВТОРОЙ

### СПИННОМОЗГОВАЯ ЖИДКОСТЬ

Общие свойства . . . . .	253
1) Цвет . . . . .	253
2) Прозрачность . . . . .	254
3) Удельный вес . . . . .	254
Цитологическое исследование . . . . .	254
1) Счет форменных элементов . . . . .	254
2) Дифференцирование клеточных элементов . . . . .	256
Бактериоскопическое исследование . . . . .	257
1) Туберкулезная палочка . . . . .	257
2) Менингококк . . . . .	258
3) Другие возбудители гнойного менингита . . . . .	258
Химическое исследование . . . . .	258
1) Общее количество белка . . . . .	258
2) Глобулиновые реакции . . . . .	259
а) Реакция Нонне-Апельта (фаза I) — оригинальный способ и модифицированный по Росс-Джонсу. б) Реакция Панди. в) Реакция Вейх-бротта . . . . .	
3) Трипгофановая реакция . . . . .	261
4) Реакция Левинсона . . . . .	261
5) Определение сахара . . . . .	261



6) Определение хлоридов	262
7) Определение мочевины	262
Лекарственные вещества	262
Коллоидные реакции	262
1) Реакция Таката-Ара	262
2) Реакция с коллоидным золотом	263
3) Мастичная реакция	266
Серологическое исследование	267
Спинальная жидкость при различных заболеваниях	267
1) Гнойный менингит	267
2) Туберкулезный менингит	267
3) Серозный менингит	267
4) Эпидемический энцефалит	270
5) Полиомиелит	270
6) Острые и хронические инфекции	270
7) Абсцесс головного мозга	270
8) Опухоли головного и спинного мозга	270
9) Цистицеркоз головного мозга	271
10) Послеоперационный период при операциях на головном мозгу	271
11) Сифилис	271
12) Метасифилитические заболевания центральной нервной системы	272
а) Прогрессивный паралич. б) Сухотка спинного мозга. в) Сифилитический менингит и менингоспондиломиелит. г) Гуммы центральной нервной системы	
13) Схемы исследования при различных заболеваниях	272

### ОТДЕЛ ТРЕТИЙ

### МОКРОТА

#### Глава первая

#### Макроскопическое исследование

Общие свойства	274
1) Суточное количество	274
2) Запах	274
3) Цвет и прозрачность	275
4) Деление на слои	275
Характер мокроты	275
1) Слизистая мокрота	275
2) Слизисто-гнойная и гнойно-слизистая мокрота	276
3) Гнойная мокрота	276
4) Кровянистая мокрота	276
Исследование мокроты на присутствие белка	276
Макроскопически видимые патологические элементы	277
1) Спираль Куршмана	277
2) Зерна актиномикоза	277
3) Чечевички или рисовые тельца	277
4) Фибриновые свертки	277
5) Пробки Дитриха	277
6) Дифтеритические пленки из зева и носоглотки	278
7) Пузыри эхинококка	278
8) Аскариды	278
9) Некротизированные кусочки легкого	278
10) Кусочки опухоли легких	278
11) Инородные тела	278

#### Глава вторая

#### Микроскопическое исследование

Приготовление препаратов	278
1) Свежие препараты	278
2) Фиксированные окрашенные препараты	279
Клеточные элементы	279
1) Лейкоциты	279
а) Нейтрофильные лейкоциты. б) Эозинофилы. в) Лимфоциты.	
г) Базофилы и моноциты. д) Мегакариоциты	



2) Эритроциты . . . . .	281
3) Эпителиальные клетки . . . . .	281
а) Плоский эпителий. б) Цилиндрический эпителий	
4) Альвеолярные клетки . . . . .	281
5) Альвеолярные макрофаги . . . . .	282
6) Жировые шары . . . . .	283
7) Гигантские клетки . . . . .	283
8) Миэлиновые образования в клетках . . . . .	283
9) Опухолевые клетки . . . . .	283
Спирали Куршмана . . . . .	284
Эластические волокна . . . . .	285
Кристаллические образования . . . . .	286
1) Кристаллы Шарко-Лейдена . . . . .	286
2) Кристаллы гематоидина и билирубина . . . . .	286
3) Кристаллы жирных кислот и мыл . . . . .	287
4) Кристаллы холестерина . . . . .	287
5) Кристаллы лейцина и тирозина . . . . .	287
6) Другие кристаллические образования . . . . .	287
7) Тетрада Эрлиха . . . . .	287
Асбестовые тельца . . . . .	287
Животные паразиты . . . . .	289
1) Эхинококк . . . . .	289
2) Легочная дистома . . . . .	289
3) <i>Thomlinx aegophilus</i> . . . . .	290
4) Аскариды . . . . .	291
5) Простейшие . . . . .	291
Возбудители микотических заболеваний . . . . .	291

### Глава третья

#### Бактериоскопическое исследование

Туберкулезная палочка . . . . .	291
1) Исследование окрашенных мазков . . . . .	291
2) Способы обогащения . . . . .	293
а) Способ всплывания (флотации). б) Способ с антиформинном.	
в) Способ Каган. г) Способ Петрова	
3) Исследование мокроты, добытой промыванием желудка . . . . .	294
4) Исследование слизи из гортани . . . . .	294
Лучистый грибок . . . . .	295
Пневмококк . . . . .	295
1) Этиологическое значение пневмококка . . . . .	295
2) Морфология . . . . .	295
Пневмобацилла Фридендлера . . . . .	296
Палочка инфлуэнцы . . . . .	296
1) Этиологическое значение . . . . .	296
2) Морфология . . . . .	296
3) Исследование мокроты . . . . .	296
Другие микроорганизмы, встречающиеся в мокроте . . . . .	297
1) Стрептококк . . . . .	297
2) Стафилококк . . . . .	297
3) Катарральный микрококк . . . . .	297
4) <i>Micrococcus tetragenus</i> . . . . .	297
5) Палочка дифтерии . . . . .	297
6) Спирохеты . . . . .	297

### Глава четвертая

#### Мокрота при различных заболеваниях

1) Острый бронхит . . . . .	298
2) Хронический бронхит . . . . .	298
3) Бронхоэктаз . . . . .	298
4) Бронхиальная астма . . . . .	298
5) Бронхопневмония . . . . .	298
6) Крупозная пневмония . . . . .	299
7) Туберкулез легких . . . . .	299

Общие указания

Количество  
Удельный вес  
Цвет  
Прозрачность  
Запах  
Реакция  
1) Качес  
2) Колич

Белок  
1) Качес

в)  
ри  
2) Колич

3) Удале  
Альбумозы  
Уксуснобелково  
Белковое тело Б  
Виноградный са  
1) Качес

г)  
ле  
2) Колич

в)  
оп  
че  
Фруктовый сах

в)  
Молочный саха

в)  
Галактоза  
Пентоза  
Ацетоновые те

1) Проб

2) Опре

3) Опре

4) Опре

5) Диагн

Желчные пигм  
Желчные кисло



8) Абсцесс легкого . . . . .	299
9) Гангрена легкого . . . . .	299
10) Актиномикоз легкого . . . . .	299
11) Злокачественные новообразования . . . . .	299

# ОТДЕЛ ЧЕТВЕРТЫЙ МОЧА

Общие указания к исследованию мочи . . . . .	300
--	-----

## Глава первая Физико-химическое исследование мочи

Количество . . . . .	301
Удельный вес . . . . .	301
Цвет . . . . .	303
Прозрачность . . . . .	304
Запах . . . . .	305
Реакция . . . . .	305
1) Качественное определение . . . . .	305
2) Количественное определение . . . . .	305
а) Посредством титрования. б) Определение истинной кислотности мочи. в) Диагностическое значение определения реакции мочи	
Белок . . . . .	309
1) Качественное определение . . . . .	310
а) Проба с сульфосалициловой кислотой. б) Проба с кипячением. в) Кольцевая проба (Геллера). г) Проба с уксусной кислотой и хлористым натрием	
2) Количественное определение . . . . .	311
а) Способ Брандберга. б) Диагностическое значение	
3) Удаление белка из мочи . . . . .	313
Альбумозы . . . . .	313
Уксуснобелковое тело и хондроитинсерная кислота . . . . .	314
Белковое тело Бенс-Джонса . . . . .	315
Виноградный сахар (глюкоза) . . . . .	316
1) Качественное определение сахара . . . . .	316
а) Проба Бенедикта. б) Проба Нилендера. в) Проба Гайнеса. г) Перечень веществ, затемняющих результаты реакций Гайнеса и Нилендера. д) Проба с фенилгидразином. е) Проба с брожением	
2) Количественное определение . . . . .	319
а) С помощью поляризационного аппарата. б) Способ Бенедикта. в) Упрощенное количественное определение сахара. г) Количественное определение сахара по способу Альтгаузена. д) Диагностическое значение	
Фруктовый сахар (левулеза) . . . . .	325
а) Качественное определение. б) Количественное определение. в) Диагностическое значение	
Молочный сахар (лактоза) . . . . .	325
а) Качественное определение. б) Количественное определение. в) Диагностическое значение	
Галактоза . . . . .	326
Пентоза . . . . .	326
Ацетоновые тела и $\beta$ -оксимасляная кислота . . . . .	327
1) Пробы для открытия ацетоуксусной кислоты и ацетона . . . . .	327
а) Проба Ланге. б) Проба Либена	
2) Определение ацетона . . . . .	328
3) Определение ацетоуксусной кислоты . . . . .	329
а) Проба Герхардта. б) Проба Арнольд-Липлявского	
4) Определение $\beta$ -оксимасляной кислоты . . . . .	330
а) Качественное определение. б) Количественное определение	
5) Диагностическое значение определения ацетоновых тел . . . . .	330
Желчные пигменты . . . . .	331
а) Проба Гмелина. б) Проба Розина. в) Проба с трихлоруксусной кислотой. г) Проба Гупперт-Сальковского. д) Проба с реактивом Фуше. е) Диагностическое значение	
Желчные кислоты . . . . .	333



а) Проба Гей. б) Проба с пептоном и салициловой кислотой.	
в) Проба с поверхностным натяжением. г) Диагностическое значение.	
Уробилин и уробилиноген . . . . .	333
1) Уробилин . . . . .	333
а) Определение при помощи спектроскопа. б) Проба Ненцкого.	
в) Проба Шлезингера. г) Проба Флоранса	
2) Уробилиноген . . . . .	335
3) Диагностическое значение . . . . .	335
Кровь и кровяные пигменты . . . . .	336
а) Проба Геллера. б) Проба Вебера ван Дена. в) Бензидиновая проба	
Порфирины . . . . .	337
1) Определение уропорфирина . . . . .	337
а) Качественное определение. б) Количественное определение	
2) Определение копропорфирина . . . . .	338
3) Диагностическое значение . . . . .	339
Индикан . . . . .	339
а) Проба Яффе. б) Проба Обермейера. в) Количественное определение. г) Диагностическое значение	
Диазореакция Эрлиха . . . . .	341
Урохромы . . . . .	342
1) Ход определения . . . . .	342
2) Диагностическое значение . . . . .	342
Уророзеин . . . . .	342
Хлор . . . . .	342
1) Способ Мора . . . . .	342
2) Способ Фольгардта . . . . .	343
3) Диагностическое значение . . . . .	344
Фосфаты . . . . .	345
Сера . . . . .	347
Диагностическое значение . . . . .	348
Азот . . . . .	348
Аммиак . . . . .	349
1) Макроспособ определения аммиака . . . . .	349
2) Микроспособ . . . . .	350
3) Диагностическое значение . . . . .	350
Креатинин и креатин . . . . .	351
Диагностическое значение . . . . .	351
Мочевая кислота . . . . .	352
1) Титриметрическое определение по Гопкинсу и Фолину . . . . .	352
2) Диагностическое значение . . . . .	353
Мочевина . . . . .	353
1) Определение в аппарате Боролина . . . . .	357
2) Определение в аппарате Коварского . . . . .	357
Диастаза . . . . .	357
Аскорбиновая кислота (витамин С) . . . . .	358
Определение витамина B <sub>1</sub> . . . . .	359
Определение токсических веществ . . . . .	361
1) Определение ртути . . . . .	361
2) Определение свинца . . . . .	363
3) Определение мышьяка . . . . .	365
4) Определение фенола . . . . .	367
Лекарственные вещества . . . . .	370
1) Иодистые и бромистые препараты . . . . .	370
2) Салициловые препараты . . . . .	370
3) Антипирин, фенацетин . . . . .	370
4) Пирамидон . . . . .	370
5) Препараты хризофановой кислоты . . . . .	370
6) Сантонин . . . . .	370
7) Таннин . . . . .	370
8) Фенолы . . . . .	370
9) Сульфамиды . . . . .	370
10) Висмут . . . . .	371
11) Хинин . . . . .	372



## Глава вторая

### Мочевые осадки

Способы приготовления микроскопических препаратов из мочевых осадков . . . . .	373
Неорганизованные осадки . . . . .	378
1) Осадки кислой мочи . . . . .	378
а) Мочекислые соли. б) Мочевая кислота. в) Щавелевокислый кальций. г) Фосфорнокислый кальций вторичный. д) Гиппуровая кислота. е) Сернокислый кальций (гипс) . . . . .	
2) Осадки щелочной мочи . . . . .	382
а) Аморфные фосфорнокислые земли. б) Фосфорнокислая аммиакмагнезия. в) Мочекислый аммоний. г) Нейтральная фосфорнокислая известь. д) Углекислый кальций . . . . .	
3) Редкие осадки, встречающиеся исключительно при заболеваниях . . . . .	383
а) Цистин. б) Ксантин. в) Лейцин и тирозин. г) Жир и жировые кристаллы. д) Холестерин. е) Билирубин и гематоидин. ж) Индиго. з) Кристаллы фенилгликозазона. и) Меланин . . . . .	
4) Обзор главных химических свойств неорганизованных осадков . . . . .	386
Организованные осадки мочи . . . . .	386
1) Клеточные элементы . . . . .	386
а) Эпителиальные клетки. б) Эпителий мочевых канальцев. в) Лейкоциты. г) Эритроциты . . . . .	
2) Истинные цилиндры . . . . .	391
а) Гиалиновые цилиндры. б) Эпителиальные и зернистые цилиндры. в) Коматозные цилиндры. г) Восковидные цилиндры. д) Гемоглобиновые цилиндры. е) Цилиндрониды. ж) Цилиндры из красных кровяных клеток . . . . .	
3) Ложные цилиндры . . . . .	394
а) Цилиндры из белых кровяных клеток. б) Цилиндры из уратов. в) Цилиндры из мочекислого аммония. г) Цилиндры из бактерий. д) Слизевые цилиндры. е) Яичковые цилиндры . . . . .	
4) Загрязнения осадков . . . . .	394
5) Прочие элементы осадка . . . . .	395
а) Уретральные нити. б) Сперматозоиды. в) Элементы новообразований. г) Кристаллы сульфамидных препаратов . . . . .	

## Глава третья

### Паразиты мочи . . . . .

1) Животные паразиты . . . . .	397
2) Растительные паразиты (микроорганизмы) . . . . .	398

## Глава четвертая

### Мочевые сростки или камни

## Глава пятая

### Исследование функциональной способности почек

Физиологические методы исследования функции почек . . . . .	404
1) Проба с разведением и концентрацией . . . . .	405
2) Исследование функции почек по Зимницкому . . . . .	406
3) Нагрузка хлористым натрием . . . . .	407
4) Нагрузка щелочью . . . . .	407
5) Нагрузка мочевиной . . . . .	408
Оценка функции почек по нагрузке чужеродными веществами . . . . .	409
1) Индигокарминовая проба . . . . .	409
2) Проба с фенолсульфонфтаleinом (фенолрот) . . . . .	409
а) При двусторонних процессах. б) При односторонних процессах . . . . .	
Оценка функции почек по химическому составу крови . . . . .	410
1) Остаточный азот . . . . .	411
2) Мочевина . . . . .	411
3) Мочевая кислота . . . . .	411
Оценка функции почек посредством сравнения состава крови и мочи . . . . .	412
1) Константа Амбара . . . . .	412



2) Определение мочевиновыделительной функции почек . . . . .	412
3) Креатининовая проба Реберга . . . . .	415
4) Очищение крови от чужеродных веществ . . . . .	416

## Глава шестая

### Гормональные исследования мочи

Биологическое распознавание беременности по Ашгейм-Цондеку . . . . .	418
Количественное определение гонадотропных гормонов . . . . .	421
Определение прегнандиола по Гутерману в видоизменении Г. В. Ордынец . . . . .	422
Определение прегнандиола в модификации А. М. Ольшанецкого и Г. М. Эпельбаума . . . . .	423

## ОТДЕЛ ПЯТЫЙ

### ВЫДЕЛЕНИЯ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ

#### Глава первая

##### Отделяемое влагалища

Гесты для определения гормональной функции яичника . . . . .	425
1) Степень чистоты влагалища . . . . .	425
2) Цитологическое исследование влагалищного мазка . . . . .	425
а) Взятие материала и окраска мазков. б) Типы клеток влагалищного мазка. в) Типы реакций . . . . .	
Животные паразиты влагалища . . . . .	427
1) <i>Trichomonas vaginalis</i> . . . . .	427
2) <i>Enterobius vermicularis</i> . . . . .	428
Патогенные бактерии . . . . .	428
1) Палочка дифтерии . . . . .	428
2) <i>B. crassus</i> . . . . .	428
Патогенные грибки . . . . .	428

#### Глава вторая

##### Семенная жидкость

Собирание материала . . . . .	429
Общие свойства . . . . .	429
Микроскопическое исследование . . . . .	429
1) Сперматозоиды . . . . .	429
2) Другие форменные элементы . . . . .	430
Определение присутствия семени в судебно-медицинской практике . . . . .	431
1) Реакция Флоранса . . . . .	431
2) Реакция Барберо-Чевидалли . . . . .	431

#### Глава третья

##### Возбудители венерических заболеваний

Бледная спирохета . . . . .	432
1) Морфология и биология бледной спирохеты . . . . .	432
2) Взятие материала . . . . .	433
3) Исследование в темном поле зрения . . . . .	434
4) Окраска бледной спирохеты . . . . .	435
5) Дифференциальный диагноз бледной спирохеты . . . . .	436
Гонококк . . . . .	437
1) Морфология . . . . .	437
2) Локализация поражения . . . . .	437
3) Методика исследования . . . . .	438
а) Взятие материала. б) Окраска препаратов. в) Бактериоскопическая картина отделяемого уретры, вагины и цервикального канала . . . . .	
Стрептобацилла Дюкрей-Унна-Крефтинга . . . . .	440
Паховый лимфогрануломатоз . . . . .	441
1) Реакция Фрея . . . . .	441
2) Реакция Гате-Папакоста . . . . .	441



ОТДЕЛ ШЕСТОЙ  
ВОЗБУДИТЕЛИ КОЖНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Глава первая  
Грибковые болезни (микозы)

Методика исследования	443
1) Взятие материала	443
2) Микроскопическое исследование	444
3) Получение культуры грибка	445
Поверхностные дерматомикозы и их возбудители	446
1) Трихофития	446
а) Поверхностная трихофития. б) Глубокая трихофития	
2) Микроспория	451
3) Парша	454
4) Эпидермофития	455
а) Паховая эпидермофития. б) Эпидермофития стоп. в) Руброфития стоп и кистей	
5) Поверхностные дрожжевые поражения кожи и слизистых оболочек	459
6) Огрубевидный лишай	461
7) Эритразма	462
Глубокие микозы	464
1) Бластомикоз	464
2) Споротрихоз	466
3) Хромомикоз	467
4) Актиномикоз	467
Плесневые микозы	469
1) Аспергиллез легких	469
2) Отомикоз	470
3) Плесневые онихомикозы	470

Глава вторая

Поражения кожи, вызываемые бактериями и простейшими

Гнойничковые болезни кожи (пиодермия)	470
Дифтерия кожи	470
Сибирская язва	471
Сап	471
Проказа	471
Лейшманиоз кожи	471

Глава третья

Поражения кожи, вызываемые паразитами животного происхождения

Чесотка	472
---------	-----

ОТДЕЛ СЕДЬМОЙ

ИССЛЕДОВАНИЕ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Глава первая

Рвотные массы

1) Количество	473
2) Состав	473
3) Цвет	473
4) Характер	474

Глава вторая

Желудочное содержимое, полученное посредством зонда

Общие указания к извлечению желудочного содержимого	474
1) Преимущества и недостатки толстого и тонкого зондов	475
2) Противопоказания к введению зонда	476



Исследование содержимого желудка, полученного натошак . . . . .	477
1) Количество . . . . .	477
2) Молочная кислота . . . . .	478
3) Микроскопия . . . . .	478
4) Белок . . . . .	478
Исследование содержимого желудка после пробного завтрака . . . . .	478
А. Одномоментные способы . . . . .	478
1) Общие замечания . . . . .	478
2) Пробный завтрак по Боасу и Эвальду . . . . .	479
Б. Многомоментные способы . . . . .	479
1) Общие замечания . . . . .	479
2) Различные пробные завтраки . . . . .	480
3) Исследование желудка тонким зонтом . . . . .	481
4) Испытание функциональной способности желудка по способу Зимницкого . . . . .	481
5) Исследование желудка по Левину . . . . .	481
6) Гистаминовая проба . . . . .	484
В. Исследование извлеченного желудочного содержимого . . . . .	485
1) Количество . . . . .	485
2) Коэффициент расслоения . . . . .	486
3) Химификация . . . . .	486
4) Запах . . . . .	486
5) Цвет . . . . .	486
6) Слизь . . . . .	486
7) Реакция . . . . .	487
8) Свободная соляная кислота . . . . .	487
9) Молочная кислота . . . . .	487
10) Летучие жирные кислоты . . . . .	488
11) Количественное определение кислот в содержимом желудка . . . . .	488
а) Определение истинной кислотности. б) Определение общей титрационной кислотности. в) Определение свободной соляной кислоты. г) Определение связанной соляной кислоты. д) Определение кислотности по Михаэлису. е) Определение дефицита свободной соляной кислоты . . . . .	
12) Определение переваривания углеводов . . . . .	491
13) Определение желчи . . . . .	492
14) Определение крови . . . . .	492
15) Определение пепсина . . . . .	492
а) Качественное определение. б) Количественное определение . . . . .	
16) Определение трипсина . . . . .	493
17) Определение липазы . . . . .	494
18) Определение сычужного фермента . . . . .	494
19) Определение хлора . . . . .	495
20) Хромоскопия желудка . . . . .	496
21) Определение количества остаточного азота в желудочном содержимом . . . . .	496
а) Методика определения. б) Диагностическое значение . . . . .	
22) Микроскопия желудочного содержимого . . . . .	497
а) Крахмальные зерна. б) Мышечные волокна. в) Жир. г) Растительные клетки. д) Эпителий. е) Эритроциты. ж) Лейкоциты. з) Клеточный состав желудочного содержимого. и) Растительные паразиты (микроорганизмы). к) Дрожжи. л) Сарцины. м) Палочки молочнокислого брожения . . . . .	

### Глава третья

#### Содержимое двенадцатиперстной кишки, полученное посредством зонда

Общие замечания . . . . .	501
Техника введения зонда . . . . .	501
Исследование желчи . . . . .	504
1) Общие свойства . . . . .	504
а) Прозрачность. б) Цвет. в) Реакция. г) Количество. д) Удельный вес . . . . .	
2) Белок . . . . .	506
3) Билирубин . . . . .	506
4) Уробилин . . . . .	507
5) Железные кислоты . . . . .	507
6) Холестерин . . . . .	507
7) Кровь . . . . .	507



8) Микроскопия желчи . . . . .	507
а) Клетки. б) Кристаллы. в) Бактерии. г) Животные паразиты	
Исследование панкреатического сока . . . . .	509
1) Количество жидкости . . . . .	509
2) Определение липазы . . . . .	510
3) Определение диастазы . . . . .	510
4) Определение трипсина . . . . .	510
а) Качественная проба. б) Количественное определение	
5) Масляный завтрак по Болдыреву . . . . .	512

#### Глава четвертая

##### Функциональные пробы печени

Пигментная функция печени . . . . .	514
1) Определение билирубина сыворотки по ванден Бергу . . . . .	514
а) Качественное определение. б) Количественное определение	
2) Определение по Герцифелду и Бокальчуку . . . . .	518
3) Вычисление билирубинового показателя . . . . .	519
4) Проба с выделением билирубина . . . . .	519
5) Диагностическое значение прямой и непрямой реакции и повышенного количества билирубина . . . . .	520
Проба с нагрузкой галактозой . . . . .	522
Тимоловая проба . . . . .	522
Проба с кефалином . . . . .	523
Реакция Таката-Ара . . . . .	524
Реакция Вельтмана . . . . .	525
Образование гиппуровой кислоты (проба Квика) . . . . .	526
а) Нагрузка per os. б) Внутривенная нагрузка	
Определение суммарной функциональной способности печени . . . . .	527

#### Глава пятая

##### Общее исследование каловых масс

1) Состав каловых масс . . . . .	528
2) Собираание материала . . . . .	528
3) Пробная диета . . . . .	529
Микроскопическое исследование . . . . .	529
1. Общие свойства . . . . .	529
1) Количество . . . . .	529
2) Плотность . . . . .	530
3) Форма . . . . .	530
4) Цвет . . . . .	531
5) Реакция . . . . .	532
6) Запах . . . . .	532
2. Отдельные составные части . . . . .	532
1) Пищевые остатки . . . . .	532
2) Патологические продукты кишечной стенки . . . . .	533
3) Паразитические черви . . . . .	533
4) Желчные и кишечные камни . . . . .	534
Микроскопическое исследование . . . . .	534
А. Методика исследования . . . . .	534
Б. Отдельные составные части . . . . .	534
1) Пищевые остатки . . . . .	534
а) Мышечные волокна. б) Соединительная ткань. в) Жир. г) Свернувшийся белок. д) Остатки растительной пищи. е) Крахмал	
2) Морфологические элементы кишечной стенки . . . . .	540
а) Эпителий плоский. б) Эпителий цилиндрический. в) Лейкоциты-нейтрофилы. г) Эритроциты. д) Макрофаги. е) Слизь	
3) Кристаллические образования . . . . .	542
а) Фосфорнокислая аммиак-магнезия-трипельфосфат. б) Нейтральный фосфорнокислый кальций. в) Щавелевокислый кальций. г) Билирубин. д) Гематин. е) Кристаллы Шарко-Лейдена. ж) Холестерин. з) Кристаллы жирных кислот и мыл	
4) Лекарственные вещества . . . . .	544
а) Кристаллы соединений висмута. б) Частицы угля. в) Соли бария. г) Кристаллы сульфонамидных соединений	
5) Детрит (зернистый распад) . . . . .	546
Макро-микроскопическое (копрологическое) исследование испражнений амёбной и бациллярной дизентерии . . . . .	546



## Глава шестая . .

### Химическое исследование испражнений

Кровь . . . . .	547
1) Реакция Деен-Вебера . . . . .	547
2) Реакция с бензидином . . . . .	548
3) Реакция с пирамидоном . . . . .	549
Билирубин . . . . .	549
Желчные кислоты . . . . .	549
Уробилин (стеркобилин) . . . . .	549
1) Качественные реакции . . . . .	549
а) Реакция с сулемой. б) Реакция с уксуснокислым цинком	
в) Спектроскопический способ . . . . .	
2) Количественное определение . . . . .	550
а) Приблизительная количественная оценка. б) Количественное	
определение по Адлеру. в) Количественное определение по Тервену	
Белковые тела (реакция Трибуле) . . . . .	555
Органические кислоты . . . . .	556
Аммиак . . . . .	557
Исследование конкрементов . . . . .	557
1) Желчные камни . . . . .	557
2) Каловые камни, кишечные камни и камни поджелудочной железы . . . . .	558

## Глава седьмая

### Простейшие

Виды простейших, их морфология и жизненный цикл . . . . .	559
Корненожки — Rhizopoda . . . . .	560
1) Собираание материала . . . . .	560
2) Микроскопическое исследование . . . . .	561
а) Приготовление нативного препарата. б) Способы концентрации	
цист. в) Приготовление фиксированных окрашенных препаратов. г) Ми-	
кроскопическое измерение . . . . .	
Виды амёб . . . . .	565
1) <i>Entamoeba histolytica</i> — дизентерийная амёба . . . . .	565
2) <i>Entamoeba dispar</i> — амёба диспар . . . . .	568
3) <i>Entamoeba Hartmanni</i> — амёба Гартмана . . . . .	568
4) <i>Entamoeba Moschkowsky</i> — амёба Мошковского . . . . .	568
5) <i>Entamoeba coli</i> — кишечная амёба . . . . .	568
6) <i>Endolimax nana</i> — карликовая амёба . . . . .	571
7) <i>Jodamoeba Bütschlii</i> — иодамёба Бючли . . . . .	572
Жгутиковые — Flagellata . . . . .	573
1) <i>Lamblia intestinalis</i> — лямблия . . . . .	573
2) <i>Trichomonas intestinalis</i> — трихомонас . . . . .	574
3) <i>Chilomastix mesnili</i> — хиломастикс . . . . .	574
Споровики — Sporozoa . . . . .	575
1) <i>Eimeria clupearum</i> и <i>Eimeria sardinae</i> . . . . .	575
2) <i>Isospora hominis</i> , количественное определение . . . . .	576
3) <i>Isospora belli</i> Wenyon . . . . .	576
Ресничные, или инфузории . . . . .	576
Балантидий . . . . .	576
<i>Blastocystis hominis</i> — бластоцисты человеческие . . . . .	577

## Глава восьмая

### Паразитические черви — глисты (гельминты)

Макрогельминтологическое исследование . . . . .	579
1) Отыскивание мелких глистов . . . . .	579
2) Отыскивание головки . . . . .	579
3) Исследование члеников . . . . .	579
Микрогельминтологическое исследование . . . . .	580
1) Нативные препараты . . . . .	580
2) Способы концентрации яиц глистов . . . . .	580
а) Способ Телемана. б) Способ Фюллеборна. в) Способ Горкиной.	
г) Способ Калантарян . . . . .	
3) Способ соскоба . . . . .	582
4) Способ концентрации личинок . . . . .	583
Морфология, жизненный цикл и патогенное значение глистов . . . . .	583
1) Ленточные глисты — цестоды . . . . .	583
а) Морфология. б) Жизненный цикл . . . . .	

7) Л

Общи  
Хими

Цитол

Бактер  
Серол  
Дифер

Эхино  
Кисты  
Гидрон  
Кисты

51 Рук



2) Отдельные представители . . . . .	585
а) <i>Diphyllobotrium latum</i> — лентец широкий. б) <i>Taenia solium</i> — цепень вооруженный. в) <i>Taeniarhynchus saginatus</i> — цепень невооруженный. г) <i>Hymenolepis nana</i> — цепень карликовый. д) <i>Hymenolepis diminuta</i> — цепень крысиный. е) <i>Drylidium caninum</i> — цепень тыквовидный. ж) <i>Echinococcus granulosus</i> — цепень эхинококка	
3) Трематоды (сосальщики) . . . . .	592
а) Морфология. б) Жизненный цикл	
4) Отдельные представители . . . . .	592
а) <i>Fasciola hepatica</i> — двуустка печочная. б) <i>Dicrocoelium lanceatum</i> — двуустка ланцетовидная. в) <i>Opisthorchis felinus</i> — двуустка сибирская или кошачья. г) <i>Clonorchis sinensis</i> — двуустка китайская. д) <i>Paragonimus ringeri</i> — двуустка легочная. е) <i>Schistosoma Mansonii</i> Sambon — цистостомы Мансона. ж) <i>Nanophytes Schikhalowa</i> — нанофиты Шихобаловой	
5) Круглые глисты . . . . .	595
а) Морфология. б) Жизненный цикл	
6) Отдельные представители . . . . .	597
а) <i>Ascaris lumbricoides</i> — аскарида человеческая. б) <i>Enterobius vermicularis</i> — острица. в) <i>Trichocephalus trichiuris</i> — власоглав. г) <i>Thomlinx aerophilus</i> . д) <i>Ancylostoma duodenali</i> — анкилостома, кривоголовка двенадцатиперстная. е) <i>Necator americanus</i> — некатор. ж) <i>Trichostrongylidae</i> — трихостронгилиды. з) <i>Strongyloides stercoralis</i> — угрица кишечная. и) <i>Trichinella spiralis</i> — трихина. к) <i>Heterodera Marioni</i> — гетеродера Мариони	
7) Личинки мух, яйца клещей и растительные клетки, симулирующие гельминты и их яйца . . . . .	608

## Глава девятая

### Бактериоскопическое исследование

1) Кал новорожденного . . . . .	609
2) Кал взрослого . . . . .	609
3) Иодофильная флора . . . . .	610
4) Плесневые и дрожжевые грибки . . . . .	610
5) Кишечная палочка . . . . .	610
6) Туберкулезная палочка . . . . .	610

## ОТДЕЛ ВОСЬМОЙ

### ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКССУДАТОВ, ТРАНССУДАТОВ И ЖИДКОСТЕЙ МЕШЕЧЧАТЫХ ОПУХОЛЕЙ (КИСТ)

## Глава первая

### Экссудаты и трансудаты

Общие свойства . . . . .	612
Химическое исследование . . . . .	612
1) Белок . . . . .	612
2) Реакция Ривальта . . . . .	612
3) Реакция Соханского . . . . .	613
Цитологическое исследование . . . . .	613
1) Приготовление препаратов . . . . .	613
2) Клеточные элементы, встречающиеся в пунктатах . . . . .	614
Бактериоскопическое исследование . . . . .	615
Серологическое исследование . . . . .	615
Дифференциальная характеристика экссудатов . . . . .	615
1) Серозные экссудаты . . . . .	615
2) Серозно-гнойные и чисто гнойные экссудаты . . . . .	616
3) Гнилостные экссудаты . . . . .	616
4) Геморрагические экссудаты . . . . .	616
5) Хилезные, химосоподобные и псевдохилезные экссудаты . . . . .	617

## Глава вторая

### Содержимое мешеччатых опухолей (кист)

Эхинококковые кисты . . . . .	618
Кисты яйцанка . . . . .	618
Гидронефроз . . . . .	618
Кисты поджелудочной железы . . . . .	619



Глава третья  
Исследование раневого экссудата

Взятие материала . . . . .	619
Окраска мазков . . . . .	619
Изучение цитогрaмм . . . . .	620
Диагностическое значение появления различных клеточных форм раневого экссудата . . . . .	621

ОТДЕЛ ДЕВЯТЫЙ

ИССЛЕДОВАНИЕ СЕКРЕТОВ И ЭКСКРЕТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ  
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОБРАЗОВАНИЙ

Общие установки при исследовании секретов и экскретов с целью обнаружения клеток злокачественных опухолей . . . . .	624
Исследование мокроты . . . . .	626
Исследование желудочного содержимого . . . . .	629
Исследование мочи . . . . .	631
Исследование жидкостей из серозных полостей . . . . .	633

ОТДЕЛ ДЕСЯТЫЙ

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ  
В КЛИНИКЕ

Введение . . . . .	636
--------------------	-----

Глава первая

Общие указания к технике бактериологических исследований

Посуда и ее подготовка . . . . .	637
Аппаратура и обращение с ней . . . . .	637
1) Приборы для стерилизации . . . . .	638
2) Инструкция по суховоздушной стерилизации . . . . .	639
3) Инструкция по стерилизации текучим паром . . . . .	639
4) Инструкция по стерилизации в автоклаве под давлением . . . . .	640
5) Свертыватель Коха . . . . .	641
6) Термостат . . . . .	641
7) Анаэростат . . . . .	643
Питательные среды . . . . .	644
1) Общие замечания к приготовлению сред . . . . .	644
а) Реакция сред. б) Фильтрование сред. в) Разливка сред . . . . .	644
2) Рецепты и технология приготовления питательных сред . . . . .	647
а) Полуфабрикаты и основные питательные среды из них б) Индикаторы. в) Среды для бактерий кишечной группы. г) Среды для микробов кокковой группы. д) Свернутая кровяная сыворотка для дифтерийных палочек. е) Среды для анаэробов. ж) Среды для туберкулезных палочек. з) Сухие питательные среды. . . . .	660
Техника посева . . . . .	660
1) Посев аэробов . . . . .	661
2) Посевы в анаэробных условиях . . . . .	663
Приготовление микроскопических препаратов . . . . .	665
1) Исследование микроорганизмов в живом состоянии . . . . .	665
а) Исследование в висючей и раздавленной капле. б) Исследование в темном поле зрения . . . . .	666
2) Приготовление окрашенных препаратов и методы окраски . . . . .	670
Собирание и пересылка материала для исследования . . . . .	671
Памятка для работников бактериологических лабораторий . . . . .	671

Глава вторая

Бактериологические исследования

Обнаружение микробов кокковой группы . . . . .	672
1) Стрептококки . . . . .	672
а) Дифференциация гемолитических стрептококков. б) Ход исследования . . . . .	676
2) Стафилококки . . . . .	678
3) Менингококки . . . . .	680
4) Пневмококки . . . . .	680
5) Гонококки . . . . .	680



Обнаружение палочки дифтерии . . . . .	680
1) Взятие материала и посев на сыворотку . . . . .	680
2) Бактериоскопическое исследование . . . . .	681
3) Ускоренный метод . . . . .	682
4) Биохимические свойства . . . . .	682
5) Определение вирулентности (токсигенности) культур . . . . .	683
Обнаружение микробов тифозно-паратифозной группы . . . . .	684
1) Общие указания к исследованию . . . . .	684
2) Методика исследования . . . . .	685
а) Исследование крови. б) Исследование испражнений. в) Исследо- вание мочи. г) Исследование желчи. д) Исследование розеол. е) Выде- ление чистой культуры и ее идентификация. ж) Реакция агглютинации с выделенными культурами . . . . .	
Обнаружение дизентерийных микробов . . . . .	693
1) Общие указания к исследованию . . . . .	693
2) Материал для исследования, его сбор и консервирование . . . . .	696
3) Посев исходного материала и ход бактериологического исследования . . . . .	698
Ускоренные методы обнаружения патогенных микробов кишечной группы . . . . .	701
1) Ускорение классического метода исследования . . . . .	702
2) Реакция коагпреципитации с гаптенем . . . . .	703
3) Реакция Предтеченского . . . . .	704
Обнаружение холерных вибрионов . . . . .	704
1) Общие указания к исследованию . . . . .	704
2) Собираение материала . . . . .	704
3) Микроскопическое исследование . . . . .	705
4) Бактериологическое исследование . . . . .	705
5) Холероподобные вибрионы . . . . .	706
Обнаружение анаэробных микробов . . . . .	707
1) Микроскопическое исследование . . . . .	707
2) Методика бактериологического исследования . . . . .	707
Обнаружение туберкулезных палочек . . . . .	709
1) Посев материала . . . . .	714
2) Упрощенный метод выращивания из пунктатов . . . . .	715
3) Ускоренные методы . . . . .	715
Обнаружение сибиреязвенных палочек . . . . .	717
1) Собираение материала . . . . .	717
2) Микроскопическое исследование . . . . .	717
3) Посев на питательные среды . . . . .	718
4) Заражение животных . . . . .	718

### Глава третья

Определение чувствительности микробов к химиотерапевтическим средствам, определение концентрации пенициллина в крови и моче . . . . .	
Определение сульфамидоустойчивости культур, выделенных от больных . . . . .	719
Определение чувствительности культур к антибиотикам . . . . .	720
Определение концентрации пенициллина в крови и моче . . . . .	721
1) Исследование крови . . . . .	721
2) Исследование мочи . . . . .	721
3) Определение чувствительности стандартного штамма стафилококка к пе- нициллину . . . . .	722
Микрометод определения пенициллина в жидкостях организма . . . . .	723
Модификация Ермольевой и Ведьминой . . . . .	724

### Глава четвертая

#### Серологические исследования при инфекционных заболеваниях

Общие указания к технике серологических реакций . . . . .	725
1) Посуда . . . . .	725
2) Аппаратура . . . . .	725
3) Ингредиенты . . . . .	726
4) Постановка реакций . . . . .	727
а) Реакция агглютинации. б) Реакции преципитации . . . . .	
Серодиагностика острых кишечных инфекций . . . . .	730
1) Реакция Видаля и ее оценка . . . . .	730
2) Серодиагностика дизентерии . . . . .	732
3) Реакция коагпреципитации с полным антигеном при брюшном тифе, паратифе и дизентерии . . . . .	732



4) Реакция связывания комплемента . . . . .	733
Серодиагностика сыпного тифа . . . . .	733
1) Реакция Вейль-Феликса . . . . .	733
2) Реакция агглютинации риккетсий . . . . .	735
Серодиагностика бруцеллеза . . . . .	735
1) Реакция Райта . . . . .	735
2) Реакция Хеддльсона . . . . .	735
Серодиагностика туляремии . . . . .	737
1) Реакция агглютинации . . . . .	737
2) Кровяно-капельная реакция . . . . .	737

#### Глава пятая

##### Биологические методы исследования

Общие указания к методике опытов на животных . . . . .	737
1) Фиксация животных . . . . .	738
2) Техника введения животным заразного материала . . . . .	738
Обнаружение возбудителя туберкулеза . . . . .	740
Обнаружение и типирование пневмококков . . . . .	741
Определение вирулентности и токсичности микробов . . . . .	743
1) Определение вирулентности . . . . .	743
2) Определение фактора распространения . . . . .	745
3) Определение токсигенности . . . . .	747
4) Определение токсичности . . . . .	747

#### Глава шестая

##### Исследование материала с неопределенным возбудителем

Исследование крови для ранней диагностики лихорадочных заболеваний . . . . .	748
Исследование извержений в крови пострадавших лиц при пищевых токсикоинфекциях . . . . .	748
Исследование крови, раневого отделяемого, гноя, экссудатов и транссудатов . . . . .	752
Исследование отделяемого глаза . . . . .	753
1) Взятие материала . . . . .	753
2) Бактериоскопическое исследование . . . . .	754
3) Бактериологическое исследование . . . . .	754
Испытание на стерильность хирургического материала и на чистоту смывов с предметов, инструментария и т. д. . . . .	756
1) Общие указания к методике исследования . . . . .	756
2) Выемка материала и методика его посева . . . . .	757

#### ОТДЕЛ ОДИННАДЦАТЫЙ

##### КОЖНЫЕ РЕАКЦИИ

Аллергические кожные реакции . . . . .	759
1) Туберкулез . . . . .	759
а) Реакция Пиркета. б) Реакция Манту. в) Кожно-пластырная проба Волпера . . . . .	761
2) Бруцеллез . . . . .	761
3) Туляремия . . . . .	762
4) Актиномикоз . . . . .	762
5) Эхинококкоз . . . . .	762
6) Трихиноз . . . . .	762
7) Дерматомикозы . . . . .	763
Иммунологические кожные реакции . . . . .	763
1) Реакция Шика . . . . .	763
2) Реакция Дика . . . . .	763
Приложения . . . . .	763
Предметный указатель . . . . .	771

Редактор Л. Г. СМЕРНОВА

Технический редактор А. Гулякова  
Зав. корректорской Л. М. Голицына

А09398. Подп. к печ. 2/VIII 1949 г. Ф. бум. 70×108/16. Зак. 90. Печ. л. 50,25 + вкл. 3,125 п. л.  
Уч.-изд. л. 75,9. МН-52 Знак. в 1 п. л. 38 000. Тир. 50 000. Цена 45 р. 50 к. Переплет 1 р. 50 к.

Первая Образцовая типография имени А. А. Жданова Главполиграфиздата при Совете Министров СССР. Москва, Валуевская, 28.  
Отпечатано с матриц в 1-й тип. Трансжелдориздата МПС. Заказ 69.



## ПРЕДИСЛОВИЕ

Десять лет прошло после выхода третьего издания этой книги. За этот промежуток времени, особенно за годы войны, определилось, в каких областях лабораторные исследования могут быть особенно полезны врачу как для ранней диагностики заболевания, так и для проверки успеха лечения. Кроме того, получили практическое значение достижения науки последнего десятилетия. Отсюда явилась потребность тщательно переработать книгу и, освободив ее от некоторых исследований, не имеющих актуального значения, внести дополнительно важные разделы.

Одним из отделов, имеющих большое значение для клиники, являются микробиологические методы исследования. В предыдущем издании микробиологические исследования были разбросаны по всей книге и не давали общих установок по работе в этой области. В настоящем издании нами введен специальный отдел «Микробиологические и серологические исследования в клинике», написанный микробиологом, хорошо знающим нужды клиники, доктором медицинских наук Е. Д. Равич-Биргер. Этот отдел может быть пособием для начинающего лабораторного работника в клинической лаборатории. Материал расположен с учетом сложности методики исследования. Здесь даны необходимые сведения об антибиотиках (сульфамидах и пенициллине).

В раздел экссудатов и транссудатов (отдел IX) внесены исследования цитологии раневого отделяемого.

Особое внимание уделено дерматомикозам, где необходимо участие лабораторного работника в диагностике возбудителя. Отдел был заново переработан проф. А. М. Ариевичем. Впервые дан раздел по определению клеток новообразования в отделяемом и жидкостях организма, разработанный проф. А. Я. Альтгаузен (Харьков).

Во все остальные отделы внесены поправки лабораторий специальных институтов. Так, раздел малярии был на просмотре в Институте малярии (проф. Мошковский). В главе, где разрабатывается выделение с мочой токсических веществ, приведено определение свинца, ртути, мышьяка по методам, принятым в Институте профзаболеваний (кандидат биологических наук С. Л. Гинзбург). Реакция Вассермана была пересмотрена в Институте имени Мечникова (проф. С. И. Гинзбург).



В текст исследования внесены предложения отечественных авторов, опубликованные и апробированные практикой.

В связи с пожеланиями клиницистов в книгу внесены методики исследования, требующие сложной аппаратуры. Это мы обязаны были сделать и потому, что такая аппаратура в основном выпускается в настоящее время нашей медицинской промышленностью. Так, внесены методики рефрактометрии и нефелометрии для определения белка сыворотки и пр., даны описания пользования фотометром. Кроме того, описаны методы работ с манометрическими приборами для определения газов крови и др.

Мы будем удовлетворены, если книга будет использована как руководство для работы в лабораториях больниц и клиник Советского Союза.

ОБЩИ

Из

гностике

отметит

серологи

Очен

логи и с

диагности

пернициоз

творных ор

руются по

отражают

ния -сла

а на осно

цировать

Помим

ставляют и

при таких

и др., указ

Что как

всёма мнст

более шир

Для по

(куда причис

связанное и

большинство

Кроветво

деланных ор

В костном ор

нуклеотиды) и

ходят из лимф

молюцитов — м

Эритроцит

возду, откуда

крас в среде



## ОТДЕЛ ПЕРВЫЙ КРОВЬ

---

### ГЛАВА ПЕРВАЯ

## МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ

### ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ К МОРФОЛОГИЧЕСКОМУ ИССЛЕДОВАНИЮ КРОВИ

Исследование крови представляет один из важнейших отделов диагностики внутренних болезней. В этой области можно в настоящее время отметить три главных направления: 1) биохимическое, 2) бактерио- и серологическое и 3) морфологическое.

Очень важное диагностическое значение имеет точное знание морфологии и соотношения всех форменных элементов крови. Сюда входит диагностика собственно болезней кроветворного аппарата, так называемой пернициозной и гипохромной анемии, лейкемии и других болезней кроветворных органов. Кроме того, путем подробного изучения крови диагностируются некоторые болезни других органов и тканей, поскольку эти болезни отражаются на морфологическом составе крови. Так, на основании увеличения числа эозинофильных клеток можно предположить наличие трихиноза, а на основании увеличения общего количества лейкоцитов можно дифференцировать сепсис от брюшного тифа и т. д.

Помимо диагностического значения, данные морфологии подчас представляют интерес и для прогноза: наличие или отсутствие лейкоцита при таких инфекционных заболеваниях, как крупозная пневмония, дифтерия и др., указывает на характер реакции со стороны костного мозга.

Что касается методов микроскопического исследования крови, то они весьма многочисленны и разнообразны. Здесь будут изложены только наиболее широко употребляемые.

Для понимания взаимной связи морфологических изменений крови (куда причисляют и количество гемоглобина, теснейшим образом с ними связанное) необходимо помнить несколько основных положений, принятых большинством авторов.

Кроветворение во внеутробной жизни человека сосредоточено в определенных органах и тканях — костном мозгу, лимфатических железах. В костном мозгу формируются эритроциты, зернистые лейкоциты (гранулоциты) и тромбоциты. Незернистые лейкоциты — лимфоциты — происходят из лимфатических желез; относительно третьего вида белых клеток — моноцитов — мнения до сего времени сильно расходятся; большинство связывает их с ретикуло-эндотелиальной тканью.

Эритроциты во внеутробной жизни человека образуются в костном мозгу, откуда они при нормальных условиях поступают в периферическую кровь в определенном количестве в виде вполне зрелых клеток характер-



ной формы, лишенных у человека какого-либо остатка ядра, при двойной окраске воспринимающих кислые краски (эозин). Количество не вполне зрелых клеток в нормальной крови невелико — 0,5 — 0,8%, причем незрелость этих клеток выражается в способности окрашиваться также и основными красками и сохранности нитчато-сетчатого вещества, обнаруживаемого при так называемой суправитальной окраске. Всякая потеря крови при наличии костного мозга с неповрежденной функцией вызывает усиленный гемопоэз. Кровопотеря может отразиться: на количестве эритроцитов, если эритропоэз не полностью компенсирует потерю; на их величине — появляются клетки неодинаковой величины, размером больше и меньше нормальных (анизоцитоз); на их форме — могут быть обнаружены клетки самого разнообразного вида (пойкилоцитоз); на степени их зрелости — появляются в большом количестве клетки, воспринимающие основные краски (полихромазия), а при более тяжелых поражениях — клетки, сохранившие ядро или остаток ядра. При этом различные болезнетворные моменты отражаются на количестве и свойствах эритроцитов неодинаковым образом, вследствие чего изменения их; обнаруживаемые при лабораторном исследовании, могут способствовать распознаванию болезни.

Веще большей степени последнее относится к изменениям числа, состава и свойств лейкоцитов. На одни заболевания организм отвечает лейкоцитозом, на другие — лейкопенией, причем и лейкоцитоз, и лейкопения могут сопровождаться появлением более молодых клеточных форм или протекать без омоложения клеточного состава белой крови.

Эритропоэз и лейкопоэз до известной степени независимы один от другого: некоторые патологические моменты, вызывающие изменения белой крови, не затрагивают красной. В то же время всякое сильное воздействие на костный мозг, даже если оно более или менее специфично по отношению к красной крови, при достаточной интенсивности отражается и на остальных продуктах костного мозга: изменяется количество, размер и степень зрелости лейкоцитов и тромбоцитов. В свою очередь заболевания, вызывающие резкие нарушения лейкопоэтической функции костного мозга, при достаточной степени интенсивности отражаются и на эритропоэзе. Например, увеличение количества ретикулоцитов наблюдается иногда одновременно с нарастанием числа нейтрофильных лейкоцитов и тромбоцитов, а лейкопения и тромбопения часто сопровождаются пониженной регенерацией эритроцитов. Лимфопоэз при этом может быть не нарушен, и лимфоциты не изменяются в количестве, форме, величине и окрашиваемости. Далее, анемии, достигающие некоторой степени тяжести, сопровождаются изменениями со стороны гранулоцитов и тромбоцитов, но лимфоциты при этом не страдают.

Имея в виду эти основные положения, можно самое исследование построить наиболее целесообразно, чтобы предупредить дополнительные вопросы, которые должны будут возникнуть при постановке диагноза. Получив при определении количества гемоглобина низкую цифру, лабораторный работник должен заинтересоваться не только количеством эритроцитов, но и числом лейкоцитов, почему, наряду с обычным мазком, подвергнуть дополнительный мазок суправитальной окраске, сделать и покрасить толстую каплю крови для суждения о степени полихроматофилии эритроцитов. В мазке нужно обратить особое внимание на свойства эритроцитов и степень изменения гранулоцитов и т. п.

Для того чтобы путем лабораторных исследований выявить эти разнообразные явления, необходимо соблюдать некоторые общие правила; в противном случае будут получены несравнимые между собой результаты. Исследования крови следует всегда производить при одинаковых



условиях. Таковые могут быть до некоторой степени обеспечены только при исследовании рано утром, когда больной еще не встал или только что встал с постели. Отнюдь недостаточно предупредить, чтобы больной до взятия крови не ел, — важна именно вся совокупность условий: отсутствие мышечных движений, влияния холодной воды при умывании, новых впечатлений дня и т. д. Пищеварение само по себе изменяет состав крови не в большей степени, чем эти моменты; кроме того, необходимо учитывать, что в привычный час утреннего завтрака, особенно если больной в ожидании взятия крови испытывает голод, наступают те же изменения, как и при фактическом поступлении пищи в желудок. Бессмысленно поэтому заставлять больного откладывать на 1—2 часа свой утренний завтрак, чтобы явиться на взятие крови натощак, особенно если его приход связан с одеванием, умыванием, хождением или даже переездом по улицам и т. п. Кроме того, морфологический состав крови, как и некоторые другие показатели, подвержен периодическим колебаниям на протяжении суток, вследствие ритмичности некоторых функций органов. В больничных условиях следует брать кровь тотчас после пробуждения больного.

Для полного морфологического (включая определение количества гемоглобина) исследования крови достаточно того количества, которое можно получить от укола иглой в мякоть пальца или мочку уха. Мякоть пальца легче обмыть и с пальцем вообще удобнее манипулировать, поэтому большинство предпочитает этот прием. Только у рабочих, имеющих дело с веществами, сильно уплотняющими кожу, иногда приходится брать кровь из мочки уха. Рука должна быть теплая, для чего лучше опустить ее перед взятием крови на несколько минут в теплую воду (45°) и насухо вытереть. Кровь берут обычно из IV пальца левой руки, меньше подвергающегося загрязнению. Укол наносят иглой Франка, имеющей то преимущество, что острое мгновенно прорезает кожу, притом только на устанавливаемую лаборантом глубину — 2, — 2,5 — 3 мм, в зависимости от толщины кожи и количества крови, которое потребуется для всего исследования.

Иглу Франка можно заменить оспенным ланцетом, тонким скальпелем (лучше отметить, на какую глубину его желательно ввести, обернув полоской липкого пластыря, чтобы нечаянно не нанести слишком глубокого укола). Инструмент следует вытереть спиртом и обсушить эфиром.

Укол не должен быть слишком поверхностным: лишние 0,5 мм в глубину не увеличивают боли от укола, а слишком слабый укол вызывает необходимость сдавливать палец, что значительно больнее; в то же время выжимание крови вредно отражается на результатах исследования. Если капля мала, то укол был сделан слишком поверхностно; лучше сделать рядом второй, более глубокий. Если кровь некоторое время вытекала хорошо, а затем капли перестали появляться, то сгусток крови закрыл просвет сосуда; в таких случаях обычно достаточно сильно потереть палец марлей или полотенцем, вызвав этим хорошую гиперемию. Палец должен быть хорошо обсушен, иначе капля растекается на коже и не образует купола, удобного для насасывания; это достигается тщательным обтиранием пальца эфиром после того, как он будет вытерт спиртом. Во время взятия крови удобно иметь для вытирания марлю или вату, смоченную эфиром, или же сухую марлю, но не сухую вату, от которой к пальцу пристают волоски. Первую выступившую каплю стирают и дают появиться второй. По окончании исследования кончик пальца заворачивают в вату, смоченную эфиром, и предлагают больному крепко прижать его к ладони; кровотечение останавливается очень быстро.



Полное морфологическое исследование крови, которое делают каждому больному в день поступления в стационар, носит ориентировочный характер; оно состоит в определении количества гемоглобина, подсчете красных кровяных клеток, белых кровяных клеток и изучении тех и других на окрашенном мазке. Реже, уже обычно при определенном показании, к этому присоединяют подсчет ретикулоцитов, базофильнозернистых эритроцитов, тромбоцитов и др.

Порядок взятия крови таков: первую каплю стирают, затем набирают кровь на гемоглобин и тотчас спускают в пробирку с заранее натитой в нее соляной кислотой, чтобы растворение успело закончиться, пока происходит дальнейшая процедура; далее берут кровь в смеситель для лейкоцитов, потому что для него требуется большое количество крови, которое легче получить из первых капель, затем в смеситель для эритроцитов и, наконец, делают мазки; после каждой из этих отдельных манипуляций палец вытирают насухо смоченной в эфире ваткой или марлей.

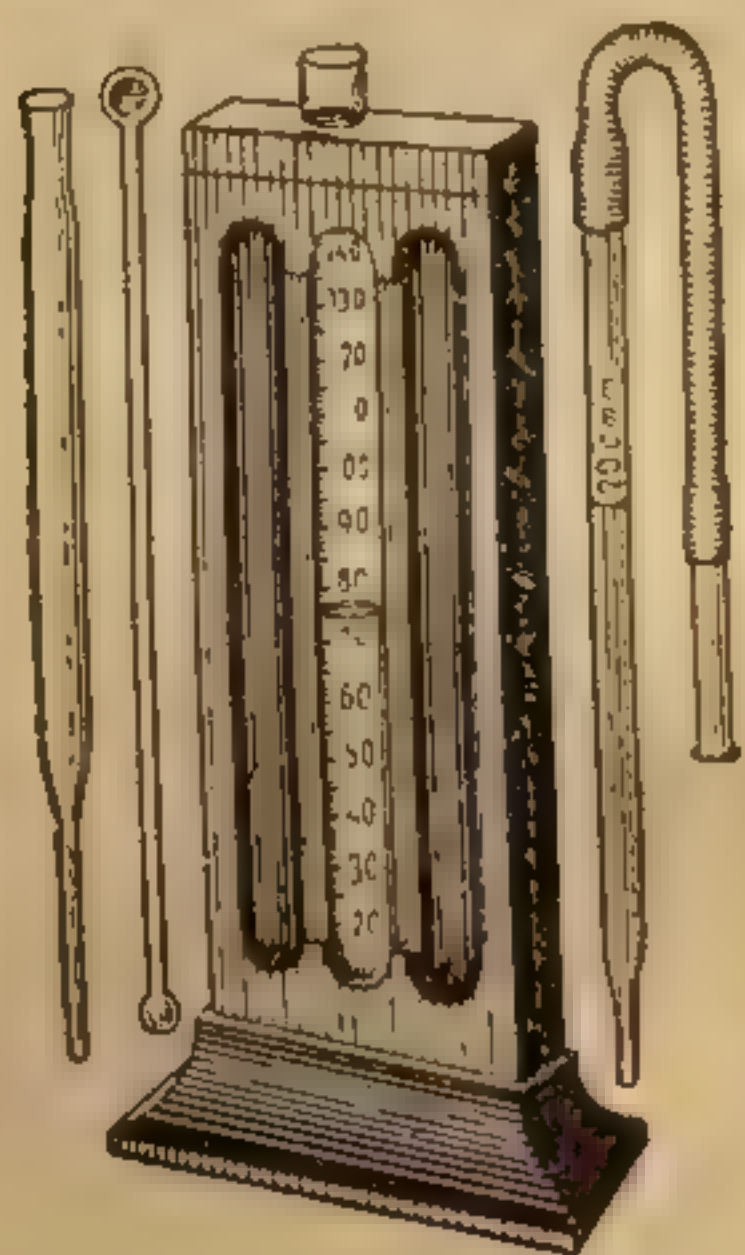


Рис. 1. Гемометр типа Сали. Модель со стандартном из цветного стекла, по одному столбику с каждой стороны пробирки с кровью. Пипетка для взятия крови емкостью в 20 мм<sup>3</sup>; простая пипетка для прибавления воды небольшими порциями; стеклянная палочка для смешивания кровяного раствора с водой.

Когда взятие крови закончено, разводят гемоглобин. Если одновременно ставят реакцию оседания эритроцитов, то начинают с нее.

Если взятие крови происходит подряд у нескольких больных, то удобно пользоваться фотографическими ванночками: в них складывают препроводительную записку, оба смесителя и мазки; помечают на записке количество гемоглобина и точное время постановки реакции оседания эритроцитов, если последняя ставится одновременно со взятием крови. Сразу метят мазки, делая надпись на мазке простым карандашом.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ГЕМОГЛОБИНА

Для определения количества гемоглобина обычно пользуются колориметром простейшего устройства, носящим название гемометра Сали. Этот гемометр состоит из двух, чаще трех стеклянных пробирок: одной пустой, градуированной, других запаянных с обоих концов, содержащих 1% раствор солянокислого гематина в глицерине или какую-либо другую жидкость такого же цвета (рис. 1). Пробирки вставлены в подставку, задняя стенка которой сделана из молочного стекла.

Вместо пробирок с солянокислым гематином иногда делают невыцветающие цветные стеклянные палочки. Этих палочек обычно имеется две, по обе стороны от пробирки, предназначенной для испытуемой крови; при таком расположении ошибка при колориметрировании меньше.

Пробирка для крови снабжена делениями, обычно до 140. Диаметр пробирки должен быть всегда одинаковым. К прибору приложена также пипетка с одной меткой для насасывания крови. Емкость ее до метки равна 20 мм<sup>3</sup>.

Приборами типа Сали можно пользоваться как при дневном свете, так и при искусственном освещении. Цифра 100 в гемометре должна соответствовать 16—17 г гемоглобина в 100 см<sup>3</sup> крови (см. ниже). Предварительно каждый гемометр должен быть выверен. Различные гемометры



разнятся между собой довольно значительно, так что при работе без соответствующей поправки получаются несравнимые данные. Выверить гемометр можно с помощью более точных колориметров или посредством количественного определения железа, либо связываемого кислорода крови, или еще более сложными способами. Обычно проверку производит какая-либо из больших лабораторий города.

Одним из источников ошибок (предполагая, что прибор выверен) является слишком быстрая работа. Максимальное окрашивание раствора крови достигается не сразу, а значительно позднее; поэтому если колориметрировать тотчас после взятия крови, то цифры получаются более низкие. Наибольшее потемнение имеет место в течение первых 10 минут. Поэтому считывание производят через определенный промежуток времени, всегда один и тот же (для получения сравнимых между собой данных), например, через 5 минут. Пробирку с солянокислым гематином перед сравнением надо встряхнуть.

По окончании работы тотчас выливают раствор крови из пробирки и ополаскивают ее дистиллированной водой, а если она сейчас же должна служить для следующих определений, то и децинормальной соляной кислотой; пипетку промывают насасыванием и выдуванием дистиллированной воды. Гемометры с жидким стандартом необходимо хранить в темном месте и во время работы возможно меньше подвергать их действию света.

**Ход определения.** Для исследования крови в пустую пробирку наливают до деления, помеченного цифрой 10, п/10 раствор соляной кислоты ( $15 \text{ см}^3 \text{ HCl}$  удельного веса 1,19 на 1 л воды). Отмеривать соляную кислоту следует с достаточной точностью, иначе условия растворения крови в кислоте, а следовательно, и условия потемнения жидкости будут неодинаковыми, и полученные результаты трудно будет сравнивать между собой. Затем делают укол в мякоть пальца, как было указано выше, насасывают кровь в капиллярную пипетку точно до метки и, тщательно обтерев кончик капилляра от приставшей снаружи крови и еще раз проверив после этого, точно ли до метки набрана кровь, спускают кровь в кислоту, коснувшись пипеткой поверхности жидкости. Кровь падает на дно, верхний слой жидкости остается прозрачным. Чтобы не вдуть в жидкость воздух, вызвав этим образование пены, от которой потом трудно будет избавиться, кровь выдувают не целиком, а оставляют в кончике пипетки столбик вышиной около 1 мм, вынимают капилляр из жидкости и выдувают оставшуюся кровь на стенку пробирки непосредственно над верхним уровнем жидкости; отсюда ее легко смыть легким наклоном пробирки. После этого повторным втягиванием и выдуванием верхнего слоя кислоты промывают капилляр, соблюдая указанную предосторожность. Кровь в пробирке тщательно размешивают, ударяя пальцем по нижней части пробирки, удерживаемой двумя пальцами второй руки за верхнюю часть, и отмечают этот момент на часах. По истечении условленного времени (5 минут) прибавляют дистиллированную воду до тех пор, пока цвет разбавленной крови (точнее, раствора гематина) не будет одинаков с цветом жидкости в запаянной трубке. Сначала приливают сразу довольно большое количество воды, смешивают и сравнивают со стандартной пробиркой; в дальнейшем, когда цвет кровяного раствора уже приближается к цвету стандарта, смешивание и сравнение повторяют после прибавления каждых 1—2 капель воды. Смешивание без всякой потери производится тонкой стеклянной палочкой с закругленным концом, причем каждый раз дают жидкости полностью с нее стечь. Отмечают уровень стояния жидкости. Цифра эта указывает содержание гемоглобина в процентах считая нормальное содержание гемоглобина за 100.



При сильных степенях анемии нужно брать двойное количество крови, так как сравнение в темных тонах точнее. Способ Сали дает ошибку около 5%.

Выше было указано, что цифра 100 должна соответствовать 16—17 г гемоглобина в 100 см<sup>3</sup> крови; таким образом, как бы признается нормальной именно эта концентрация гемоглобина в крови здорового взрослого человека. На самом деле эта цифра хотя и не представляет собой редкого явления, все же выше средней нормы. Поэтому в значительном большинстве случаев у вполне здоровых людей с нормальным количеством хорошо окрашенных эритроцитов получается не 100% гемоглобина,

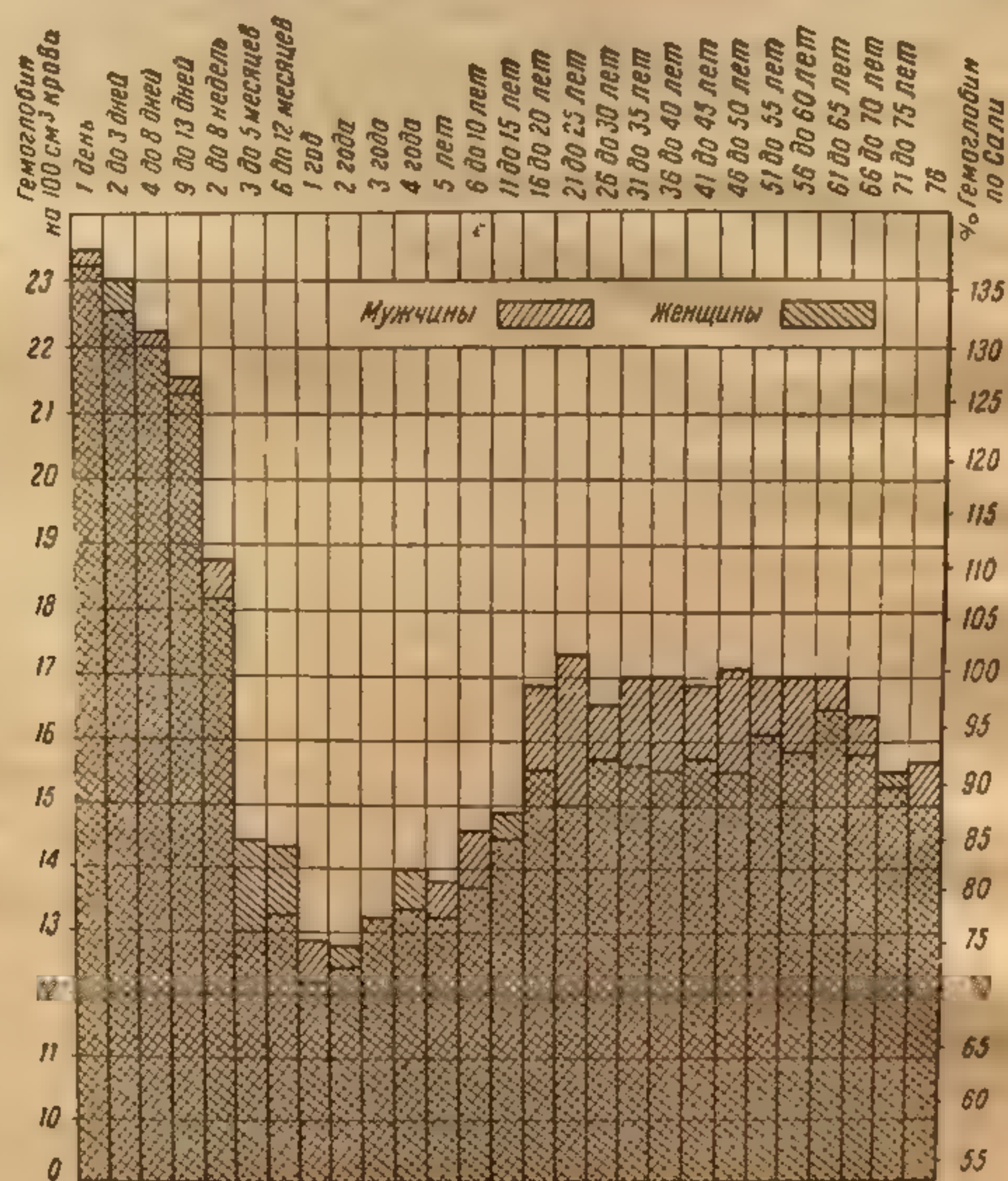


Рис. 2. Колебания нормального количества гемоглобина в зависимости от пола и возраста.

а меньше, что можно ошибочно принять за неполноценность состава крови (рис. 2). Правильнее было бы, если бы цифре 100 соответствовала более низкая цифра — 16 или даже 15 г гемоглобина в 100 см<sup>3</sup> крови; тогда 100% гемоглобина составляли бы действительно среднюю норму здорового взрослого человека. Наилучшим выходом из этого затруднения могло бы явиться указание количества гемоглобина не в условных цифрах, а в граммах на 100 см<sup>3</sup> крови (грамм-процентах), как это принято для всех остальных химических составных частей крови. На многих гемометрах рядом с обычной градуировкой пробирки уже нанесены цифры, указывающие соответствующее данному делению пробирки количество гемоглобина в грамм-процентах (рис. 2). Только такой способ обозначения концентрации гемоглобина позволил бы сравнивать между собой результаты, полученные в различных лабораториях, и понимать



При сильных степенях анемии нужно брать двойное количество крови, так как сравнение в темных тонах точнее. Способ Сали дает ошибку около 5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

Выше было указано, что цифра 100 должна соответствовать 16—17 г гемоглобина в 100 см<sup>3</sup> крови; таким образом, как бы признается нормальной именно эта концентрация гемоглобина в крови здорового взрослого человека. На самом деле эта цифра хотя и не представляет собой редкого явления, все же выше средней нормы. Поэтому в значительном большинстве случаев у вполне здоровых людей с нормальным количеством хорошо окрашенных эритроцитов получается не 100<sup>0</sup>/<sub>0</sub> гемоглобина,

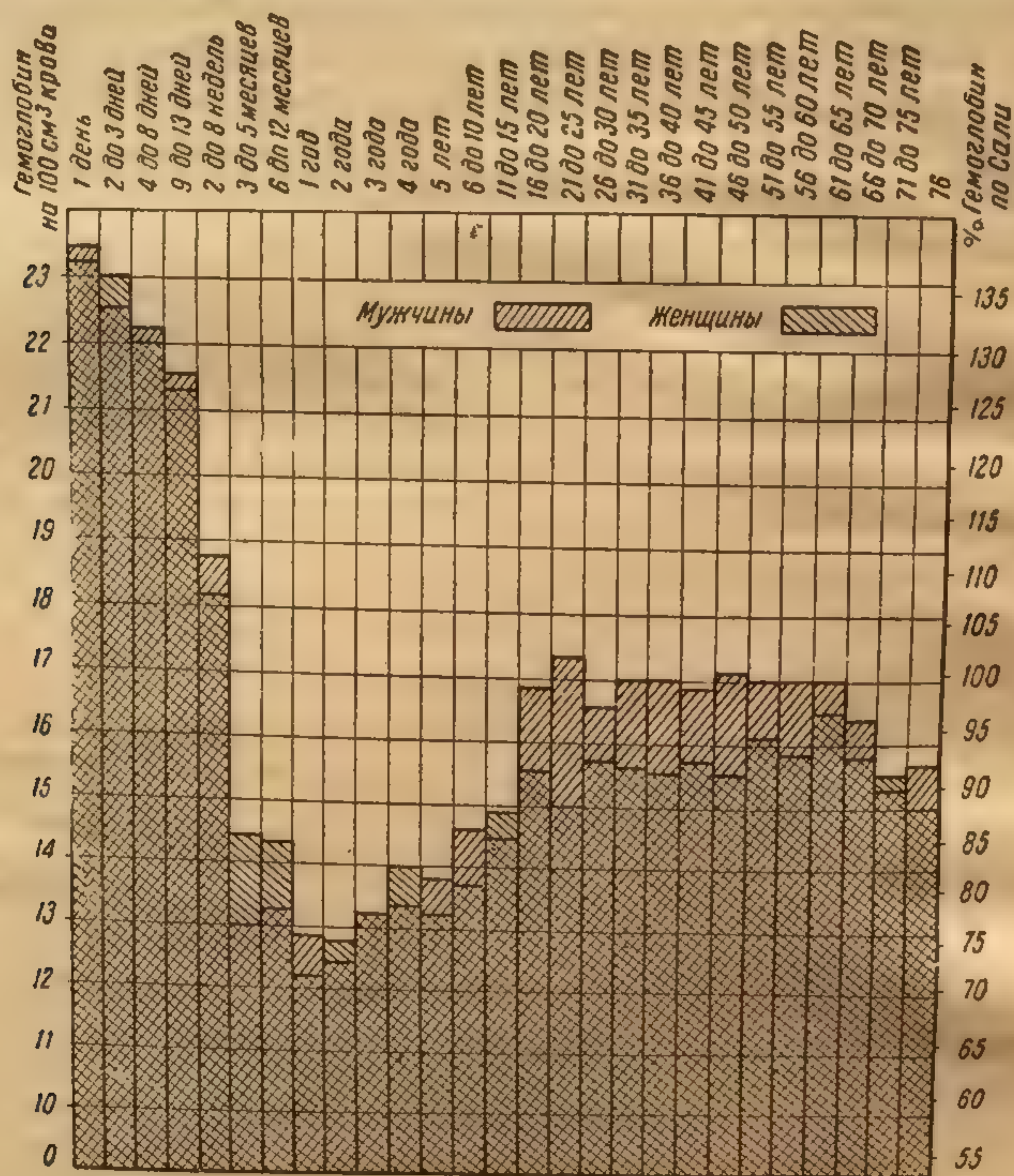


Рис. 2. Колебания нормального количества гемоглобина в зависимости от пола и возраста.

а меньше, что можно ошибочно принять за неполноценность состава крови (рис. 2). Правильнее было бы, если бы цифре 100 соответствовала более низкая цифра — 16 или даже 15 г гемоглобина в 100 см<sup>3</sup> крови; тогда 100<sup>0</sup>/<sub>0</sub> гемоглобина составляли бы действительно среднюю норму здорового взрослого человека. Наилучшим выходом из этого затруднения могло бы явиться указание количества гемоглобина не в условных цифрах, а в граммах на 100 см<sup>3</sup> крови (грамм-процентах), как это принято для всех остальных химических составных частей крови. На



При сильных степенях анемии нужно брать двойное количество крови, как сравнение в темных тонах точнее. Способ Сали дает ошибку около 5%.

Выше было указано, что цифра 100 должна соответствовать 16—17 г гемоглобина в 100 см<sup>3</sup> крови; таким образом, как бы признается нормальной именно эта концентрация гемоглобина в крови здорового взрослого человека. На самом деле эта цифра хотя и не представляет собой редкого явления, все же выше средней нормы. Поэтому в значительном большинстве случаев у вполне здоровых людей с нормальным количеством хорошо окрашенных эритроцитов получается не 100% гемоглобина,

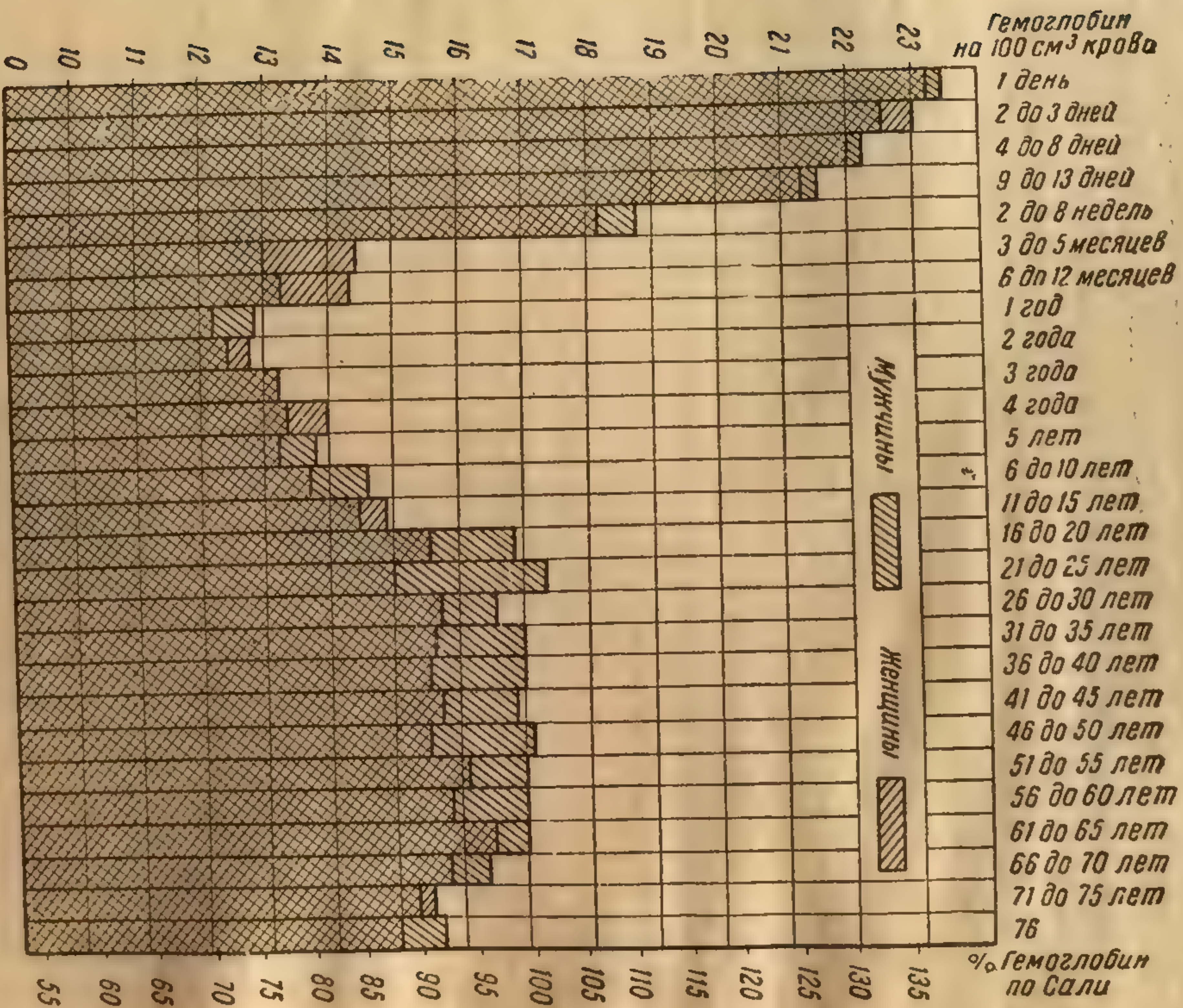


Рис. 2. Колебания нормального количества гемоглобина в зависимости от пола и возраста.

а меньше, что можно ошибочно принять за неполноценность состава крови (рис. 2). Правильнее было бы, если бы цифре 100 соответствовала более низкая цифра — 16 или даже 15 г гемоглобина в 100 см<sup>3</sup> крови; тогда 100% гемоглобина составляли бы действительно среднюю норму здорового взрослого человека. Наилучшим выходом из этого затруднения могло бы явиться указание количества гемоглобина не в условных цифрах, а в граммах на 100 см<sup>3</sup> крови (грамм-процентах), как это



данные, приводимые в литературе. В настоящее время, однако, большинство выпускаемых в продажу гемометров калибровано именно так, как указано, т. е. 16—17 г; приходится поэтому при проверке гемометров исходить из этой цифры, чтобы получать сравнимые данные.

При патологических изменениях красной крови количество гемоглобина и число эритроцитов во многих случаях изменяются не в одинаковой степени: чаще количество гемоглобина уменьшается резче, чем число эритроцитов; реже наблюдается обратное, т. е., несмотря на резкое падение количества эритроцитов, концентрация гемоглобина изменяется относительно мало. Другими словами, одно и то же количество эритроцитов может при одних заболеваниях содержать больше гемоглобина, чем при других. Это соотношение между количеством гемоглобина и числом эритроцитов носит название цветного показателя; оно может иметь определенное диагностическое значение. Цветной показатель вычисляется по следующей формуле:

$$\text{Цветной показатель} = \frac{\text{найденное количество гемоглобина}}{\text{нормальное количество гемоглобина}} : \frac{\text{найденное число эритроцитов}}{\text{нормальное число эритроцитов}}.$$

Следовательно, при 40% гемоглобина и 3 200 000 красных шариков цветной показатель равен:

$$\frac{40}{100} : \frac{3\,200\,000}{5\,000\,000}, \text{ или } \frac{40 \times 5\,000\,000}{100 \times 3\,200\,000},$$

или после сокращения дроби:

$$\frac{40}{2 \times 32} = 0,625.$$

Другими словами, чтобы вычислить цветной показатель, нужно найденное количество гемоглобина разделить на удвоенное число сотен тысяч красных клеток. Очевидно, для среднего нормального количества гемоглобина в 100% и красных клеток в 5 000 000 цветной показатель будет равен 1.

С меньшей точностью можно сказать, что если 100% гемоглобина соответствуют 5 000 000 красных кровяных клеток, то на каждый миллион должно иметься 20% гемоглобина; отсюда 30% гемоглобина при 2 000 000 клеток означает низкий, а 45% гемоглобина при том же количестве клеток — повышенный цветной показатель. Он колеблется у здоровых от 0,85 до 1.

Диагностическое значение имеет как определение количества гемоглобина как такового, так и вычисление цветного показателя. Определение количества гемоглобина является наиболее простым, быстрым и во всех отношениях общедоступным способом распознавания малокровия; за исключением, может быть, периодов ремиссии при злокачественном малокровии, вряд ли существует анемия с нормальным количеством гемоглобина; в дальнейшем, конечно, если обнаружено малокровие, должен последовать подсчет красных клеток.

Вычисление цветного показателя представляет интерес главным образом для дифференциального диагноза между пернициозной и различными другими, гораздо чаще встречающимися анемиями. Первые характеризуются показателем выше единицы; большинство же других анемий, вызванных кровопотерей, инфекцией, интоксикацией и т. п., а также хлороз гипохромны, т. е. цветной показатель их ниже единицы. Необходимо помнить, однако, что было бы неправильно ставить диагноз злокачественного малокровия на основании повышенного цветного показателя, так как последний встречается также при ряде анемий другого происхождения:



при многих тяжелых анемиях детского возраста, циррозах печени, некоторых поражениях поджелудочной железы, раках желудка и другой локализации, в особенности, если имеются костномозговые метастазы, при септических анемиях с повышенным распадом крови, при так называемой приобретенной гемолитической анемии и др.

## ПОДСЧЕТ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В КАМЕРЕ

Основной принцип подсчета форменных элементов крови заключается в следующем: надо точно отмерить небольшое количество крови, равномерно развести его точно отмеренным количеством жидкости и поместить в камеру определенной емкости, в которой полученная взвесь крови

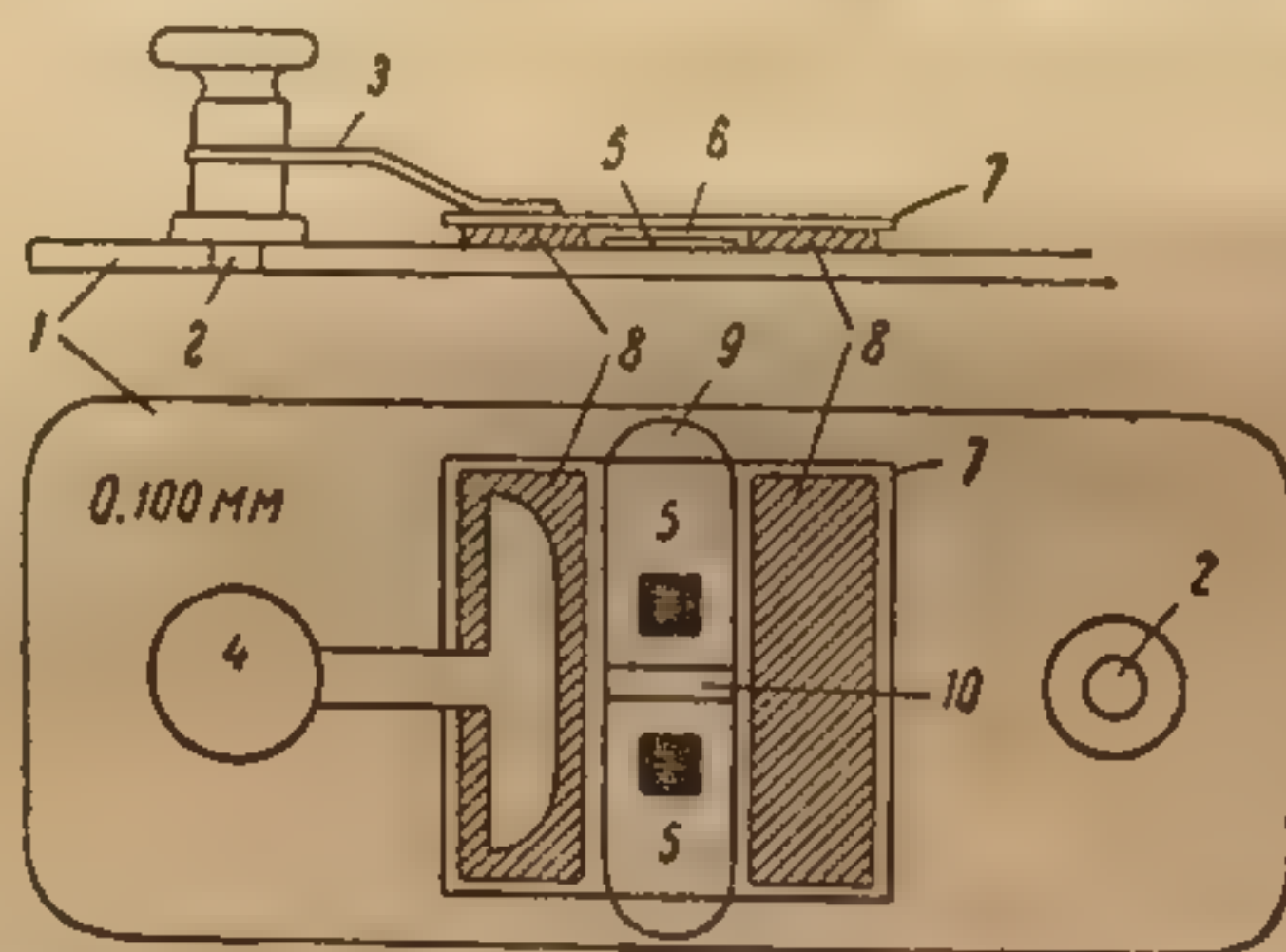


Рис. 3а. Камера типа Бюркера. Модель, снабженная клеммой для прижимания покровного стекла. Верхний рисунок изображает камеру в поперечном разрезе, нижний — общий вид камеры.

1 — толстое предметное стекло, составляющее основу камеры; 5 — центральная пластинка, разделенная на две половины желобком 10; на обеих половинах нанесено по сетке; концы пластинки (9) в обе стороны выступают из-под покровного стекла (7). Этот участок предназначен для нанесения капли. Покровное стекло (7) укреплено на пластинках (8), часто сделанных из желтого стекла; в данной камере для укрепления его служат клеммы, вставленные в отверстия в предметном стекле (2). Клемма состоит из головки (4), пружинящей пластинки (3) и собственно удерживающей стекло части. Когда последняя плотно прижимает покровное стекло, появляются кольца Ньютона; в более грубых моделях камер то же достигается прижатием покровного стекла пальцами. Между пластинкой (5), несущей сетку, в покровном стекле остается щель (6), ясно видимая на поперечном разрезе; она составляет глубину камеры (0,1 мм).

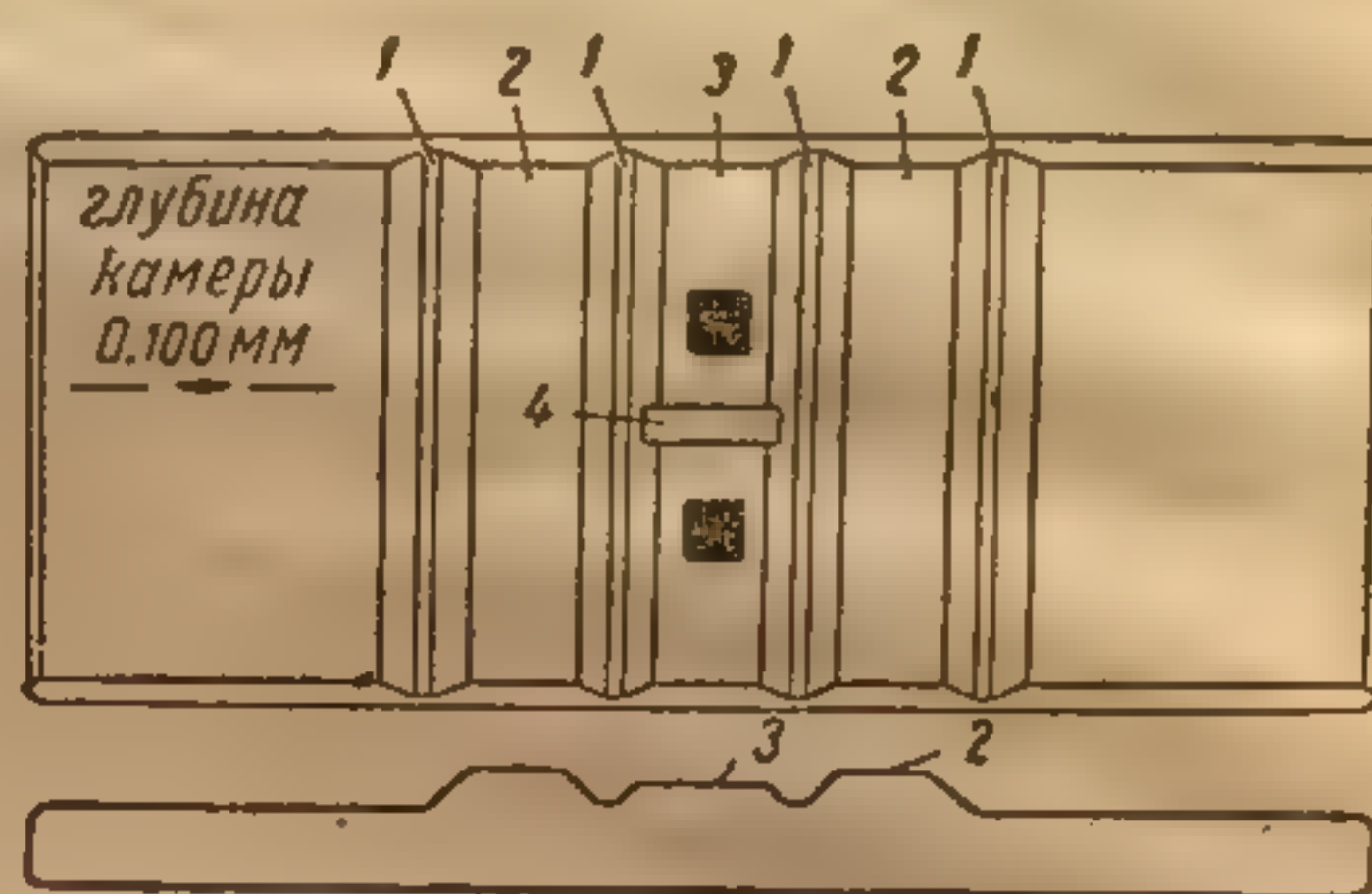


Рис. 3б. Новая модель той же камеры, изготовленная из цельного стекла, на котором вырезаны, а не наклеены отдельные части.

1,1 — желобки, ограничивающие поверхности (2,2), предназначенные для прижатия покровного стекла; 3 — часть, несущая сетку, разделенная на две половины желобком (4). На поперечном разрезе (нижний рисунок) видно, что эта часть ниже, чем обе лежащие рядом поверхности; эта разница соответствует 0,1 мм (глубина камеры).

распределялась бы в один слой; дно камеры разграфлено, благодаря чему возможен точный подсчет. Отсюда ясно, что для подсчета красных и белых кровяных клеток нужны смесители, счетные камеры и разводящие жидкости.

1) **Счетные камеры.** Счетная камера состоит из толстого предметного стекла, на котором укреплен (или вырезан) стеклянная же пластинка с выгравированной на ней сеткой (некоторые камеры сделаны из цельного куска стекла). Около пластинки с сеткой (вокруг или по обе стороны) помещается другая пластинка на 0,1 мм выше первой. На этой пластинке при подсчете клеток плотно укрепляют покровное стекло; таким образом, высота пространства между несущей сетку пластинкой (первой) и покровным стеклом, иначе говоря, глубина камеры, соответствует 0,1 мм. Необходимо иметь для этой цели специальное более толстое стекло, так как тонкие гистологические покровные стекла не имеют безукоризненно плоскую поверхность, и, следовательно, глубина камеры может быть местами больше или меньше, что явится причиной грубой ошибки.



Камеры бывают двух типов. Более точные результаты дает камера типа Бюркера (рис. 3а и 3б). Первая пластинка, длинная, расположена поперек предметного стекла, подразделена на две половины глубокой поперечной канавкой и имеет на каждой половине сетку, что позволяет сразу считать две капли, не заполняя вновь камеры. Стекланные прямоугольные пластинки для притирания покровного стекла расположены по одной с каждой стороны и несколько короче первой пластинки, так что, когда стекло притерто, концы первой пластинки выступают сверху и снизу. Притирают покровное стекло, накладывая его и несколько раз двигая вверх и вниз, все время плотно прижимая, пока не появятся так называемые ньютоновы кольца. На выступающий конец пластинки кладут из смесителя каплю крови, которая по капиллярности подтекает под покровное стекло, покрывая соответствующую половину пластинки; то же — на второй конец пластинки. Если образовался пузырек воздуха на самой сетке, мешая подсчету, то его удаляют легким постукиванием (карандашом и т. п.) по покровному стеклу. Выжидают 3 минуты, пока кровь полностью осядет, и производят подсчет, как будет указано ниже.

Мы описываем также камеру Цейсса, так как в некоторых лабораториях она еще применяется. Вновь эти камеры в СССР не изготавливаются.

В камере Цейсса (рис. 4) пластинка, несущая сетку, круглая; пластинка для притирания покровного стекла помещается вокруг нее и имеет форму квадрата с вырезанным в середине отверстием; между краями этого отверстия и расположенной внутри него пластинкой с сеткой остается желобок. Капля наносится на центральную пластинку; осторожно постепенно накладывают предметное стекло (не должно образоваться пузырей) и притирают, как было указано выше. Капля должна точно соответствовать по величине несущей сетку пластинке: при притирании стекла она не должна заходить за ее пределы и в то же время должна заполнять ее.

Если есть возможность выбора, то следует, несомненно, предпочесть камеру системы Бюркера, которая не только удобнее, но и дает более точные результаты. В камере Цейсса распределение форменных элементов по поверхности пластинки неравномерное: при наложении покровного стекла к периферии устремляется относительно бедная клетками жидкость. Вследствие этого при подсчете эритроцитов получается число большее, чем в действительности, приблизительно на 7%.

2) **Сетки.** Видов сеток весьма много (рис. 5—10): сетка Предтеченского, Тома, Тюрка, Бюркера, Нейбауера; в настоящее время в СССР изготавливается прекрасная камера типа Бюркера с сеткой Горяева, получившая распространение.

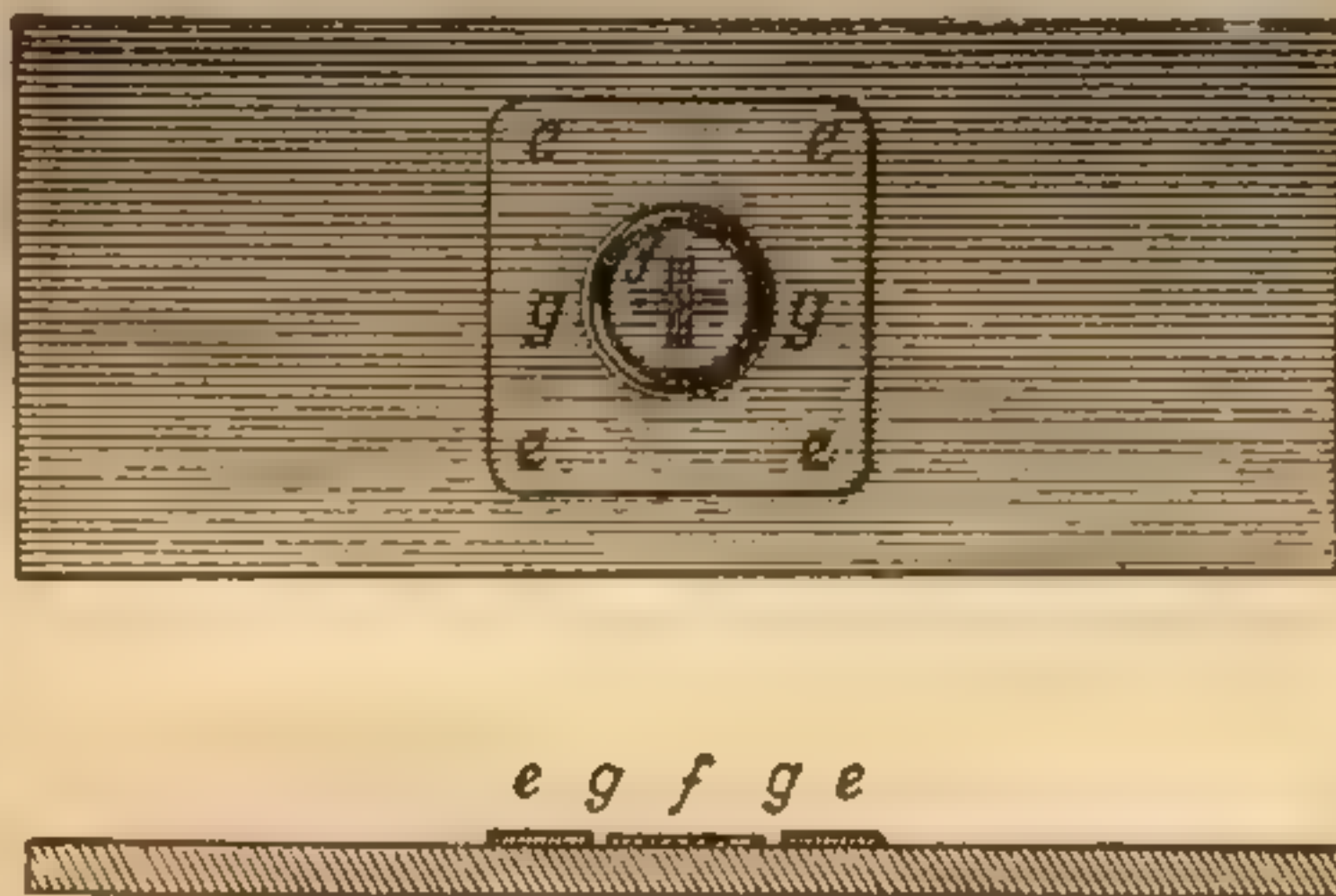


Рис. 4. Камера Цейсса. Толстое предметное стекло, как в предыдущей камере. В середине наклеена квадратная пластинка обычно желтого стекла (*e, e, e, e*), предназначенная для укрепления покровного стекла. По середине ее имеется круглый вырез, в середине которого наклеена круглая площадка, несущая сетку (*f*); от внутренних краев выреза ее отделяет желобок, обозначенный на поперечном разрезе (нижний рисунок) буквой *g*. Эта площадка ниже окружающей ее пластинки, в вырезе которой она помещается, на 0,1 мм.



Принцип всех видов сеток один и тот же: квадратная поверхность разделена на то или иное количество квадратов, различным образом сгруппированных. Малый квадрат во всех сетках имеет одинаковую величину: его стороны равны  $\frac{1}{20}$  мм, а так как высота камеры (см. выше) равна  $\frac{1}{10}$  мм, то объем, соответствующий его поверхности, равен  $\frac{1}{4000}$  мм<sup>3</sup>. Большой квадрат соответствует 16 малым квадратам.

1. Сетка Предтеченского состоит из 100 больших квадратов, из которых каждый разграфлен либо горизонтально, либо вертикально, либо крест-накрест; она имеет вполне достаточный размер и очень удобна (рис. 5). Каждый большой квадрат разграфлен на 16 маленьких.

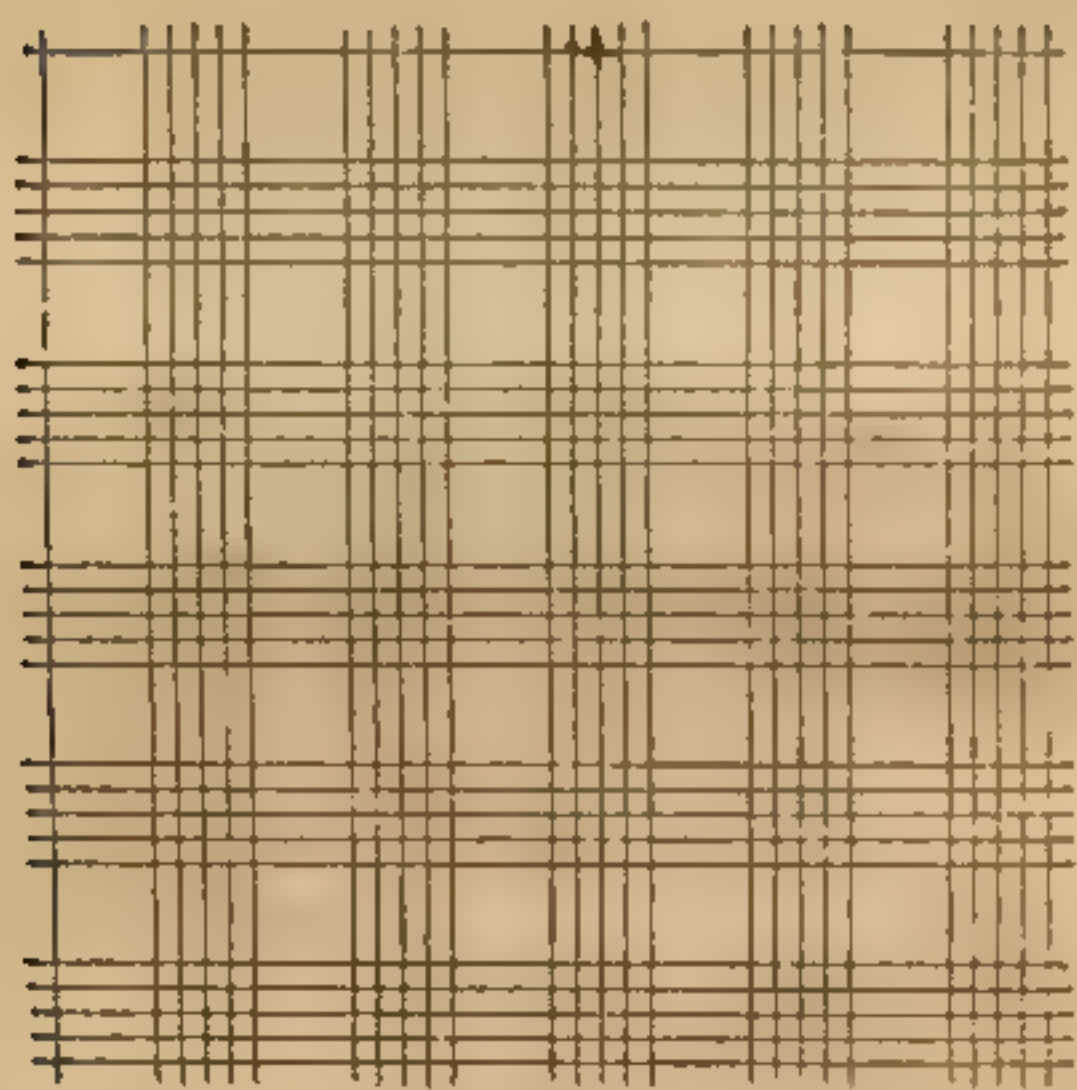


Рис. 5. Сетка Предтеченского. Состоит из 100 больших квадратов, различным образом исчерченных. Каждый второй квадрат может быть использован для подсчета эритроцитов, но выбирают квадраты, лежащие не рядом. При подсчете лейкоцитов считают все 100 больших квадратов.

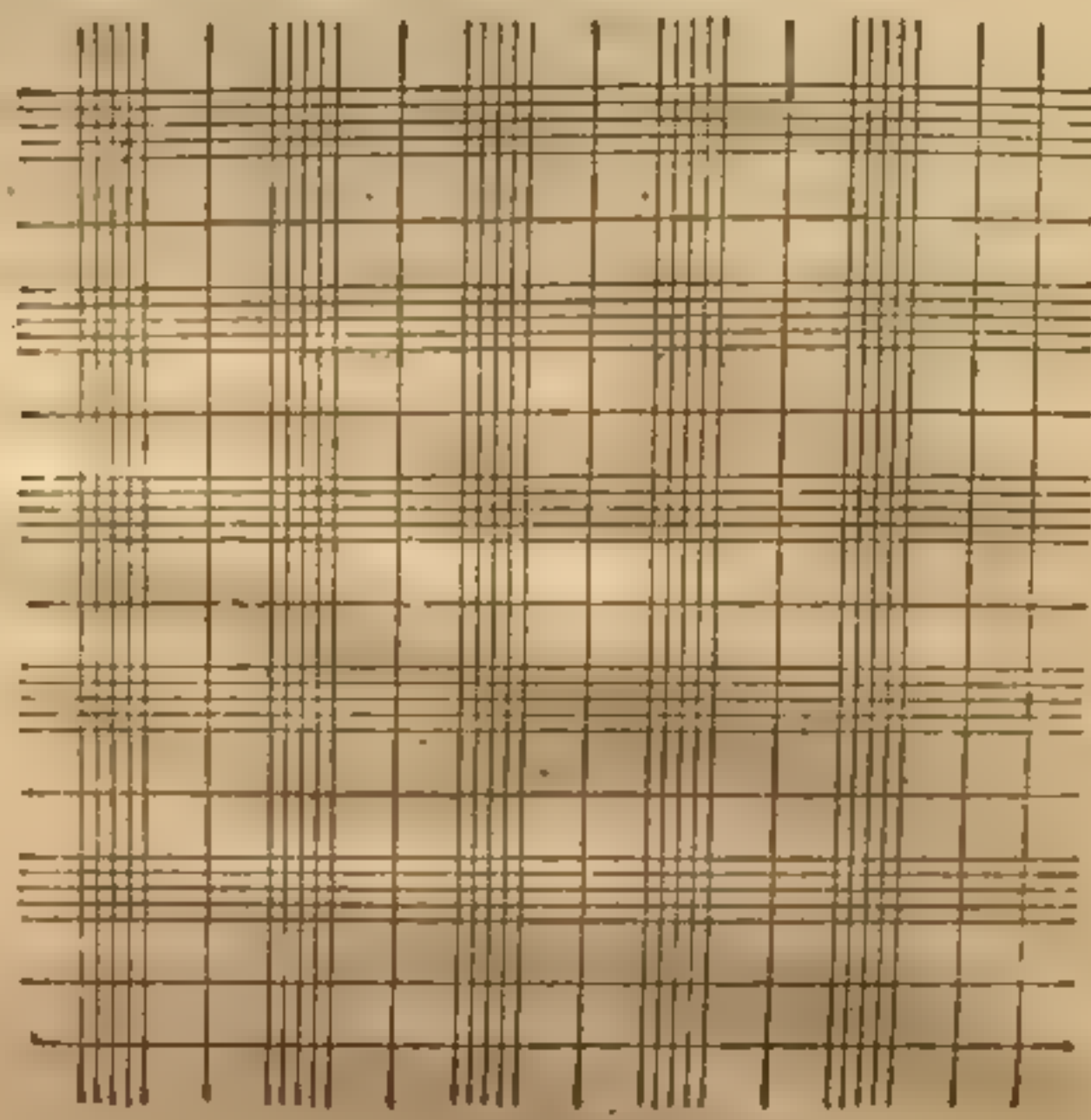


Рис. 6. Сетка Горяева.

Ключарев предложил в свое время изготавливать камеру типа Бюркера с сеткой Предтеченского. Эта камера носит название камеры Ключарева.

2. Сетка Горяева, имеющаяся на изготавливаемых в настоящее время в СССР камерах типа Бюркера, имеет  $15 \times 15$  больших квадратов, из которых часть разграфлена наподобие сетки Предтеченского, т. е. имеются большие квадраты, подразделенные на 16 малых (рис. 6).

3. Сетка типа Тома (рис. 7) малого размера. В этом ее основной недостаток, так как, для того чтобы сосчитать достаточное количество кровяных клеток (это особенно относится к лейкоцитам), ее приходится наполнять несколько раз. Сетка состоит всего из 16 больших квадратов, подразделенных каждый на 16 малых и отделенных один от другого пространством, по ширине тоже соответствующим малому квадрату; это пространство для наглядности разделено пополам чертой. Таким образом, вся сетка состоит слева направо и сверху вниз из  $4 \times 4$  малых квадратов и малых квадратов в указанных выше пространствах, всего 20 малых квадратов в ряду или 400 малых квадратов во всей сетке. Для подсчета красных клеток этого достаточно, но для подсчета лейкоцитов, ввиду их малого количества, желательно считать не менее 100 больших (1600 малых) квадратов, почему сетка Тома и неудобна для этой цели.

4. Сетка типа Тюрка по площади значительно больше сетки Тома. Концы всех линий проложены на длину, равную всей сетке Тома. Полученный таким образом крест окружен в свою очередь тройной чертой.



Заклученный в нее квадрат включает, следовательно, кроме расположенной в центре его сетки Тома, сверху, снизу и по бокам еще 8 таких же площадей, обычно подразделенных не крест-накрест (на малые квадраты), а только в одном направлении, а частью вовсе не подразделенных. Эта сетка содержит, следовательно,  $9 \times 16 = 144$  больших квадрата, по 12 в каждом ряду (рис. 8).

5. Сетка Бюркера содержит, как и сетка Тюрка, 144 больших квадрата, которые, однако, не разграфлены внутри. Большие квадраты

отделены один от другого с боков, сверху и снизу простран-

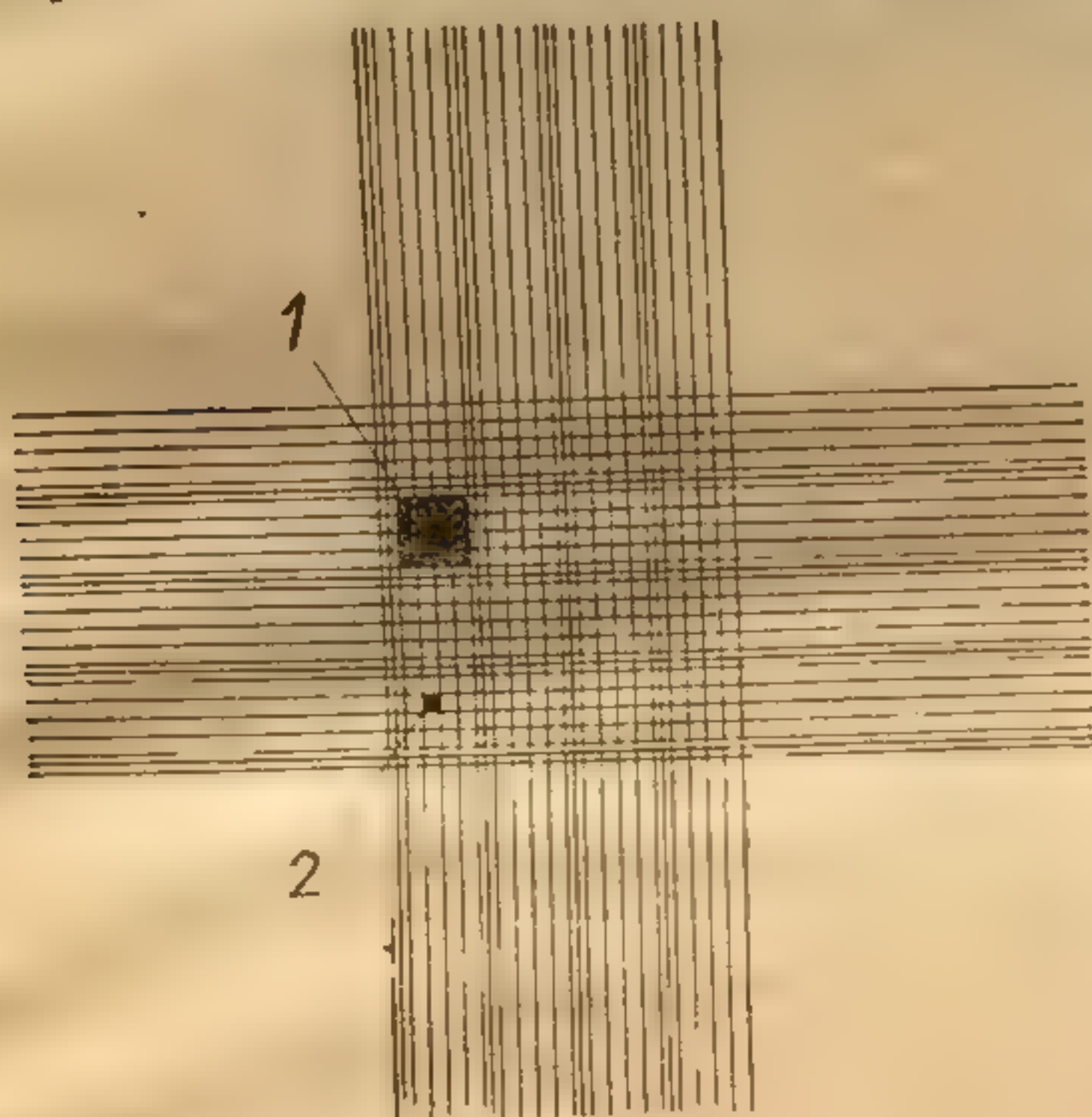


Рис. 7. Сетка Тома.

1 — большой квадрат, равный 16 малым; 2 — малый квадрат, сторона которого равна  $1/20$  мм, поверхность —  $1/400$  мм<sup>2</sup>, объем, соответствующий этой поверхности, —  $1/4000$  мм<sup>3</sup>.

ствами, по ширине равными малому квадрату. На местах перекрещивания образуются, таким образом, малые квадраты, которые и служат для подсчета красных клеток (рис. 9).

6. Сетка Нейбауера (рис. 10) разделена так же, как сетка Тюрка. Размер ее 9 мм<sup>2</sup>. Среднее поле аналогично сетке Тома и может быть использовано для счета эритроцитов. Вокруг среднего поля сгруппированы еще 8 полей величиной в 1 мм<sup>2</sup> каждый.

4 угловых поля разделены на 16 квадратов, которые в противоположность сетке Тюрка отграничиваются не двойными, а одиночными линиями. Высота камеры равняется, как и у других камер, 0,1 мм.

3) Смесители (рис. 11) представляют собой пипетку с яйцевидным расширением (ампулой), помещающимся ближе к одному концу. Длинный конец пипетки служит для набирания крови; он разделен на несколько частей. Практически пользуются только двумя метками: 0,5 и 1. Выше ампулы тоже имеется метка: ампула смесителя для красных клеток вмещает в 100 раз больше жидкости, чем стержень до метки 1 (и в 200 раз больше, чем стержень до метки 0,5), поэтому над ампулой поставлена цифра 101. В смесителе для лейкоцитов емкость ампулы в 10 (20) раз больше емкости стержня, поэтому над ампулой

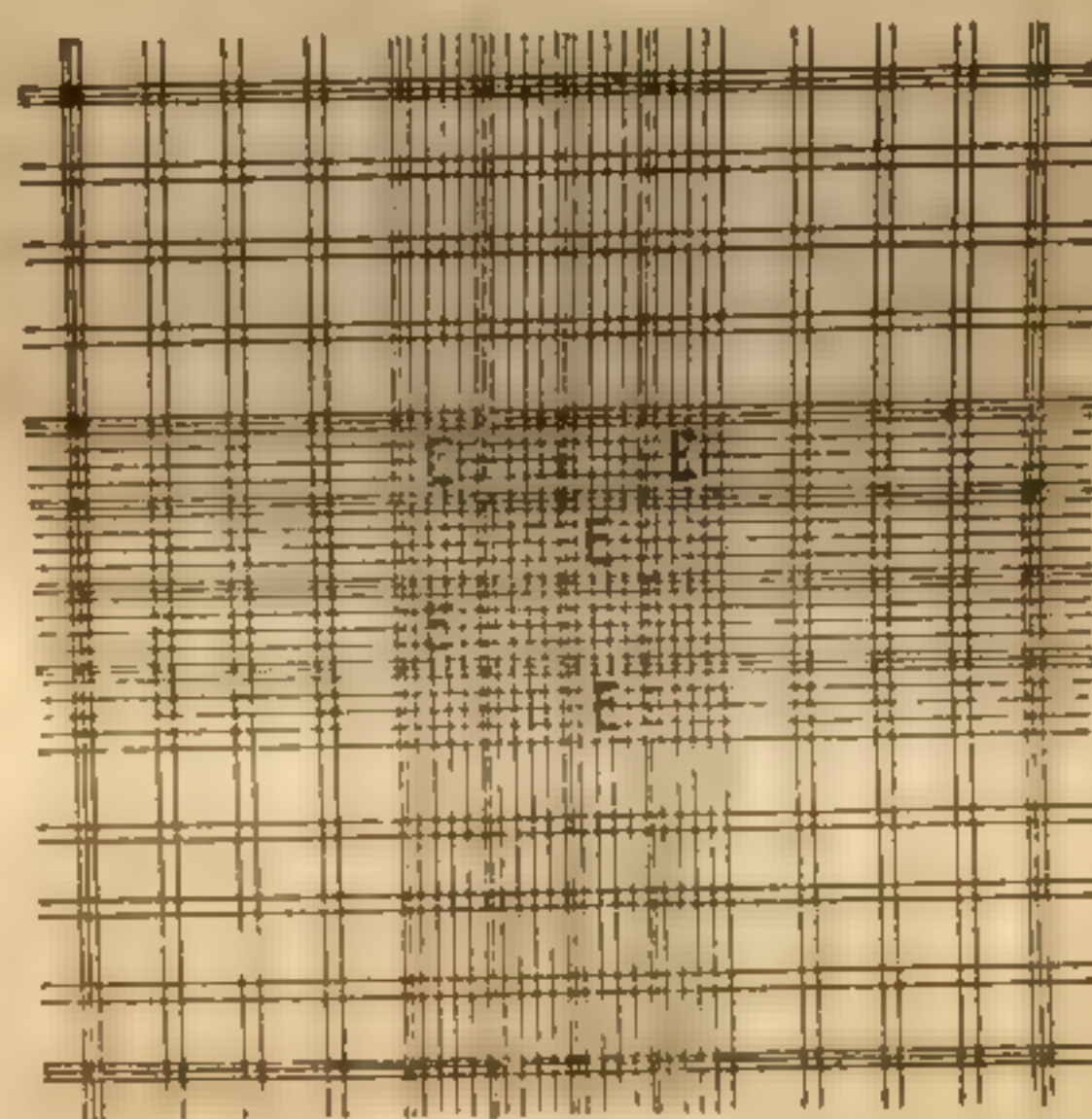


Рис. 8. Сетка Тюрка. Состоит из 9 больших квадратных площадей, разделенных на 16 больших квадратов (равных в свою очередь 16 малым). Между последними — разделяющие их пространства, ширина которых равна одному малому квадрату. Буквой E обозначены большие квадраты, подразделенные на малые, удобные для счета эритроцитов (лежат на разных концах сетки). Для подсчета лейкоцитов обычно пользуются четырьмя углами, представляющими большие квадратные площади, равные каждая 25 большим квадратам, в чем легко убедиться, суммируя поверхности также и разделяющих пространств.



поставлена цифра 11. В ампулу помещен стеклянный шарик для лучшего размешивания кровяной взвеси. Кончик длинного стержня заострен; противоположный конец приспособлен для надевания резиновой трубки. Последняя не должна быть слишком короткой, для того чтобы удобно было брать кровь, не сгибаясь, и проверять затем точность насасывания на уровне глаза.

При выборе смесителя необходимо обращать внимание на несколько деталей. Просвет стержня не должен быть слишком широким, иначе малейшее несовпадение уровня крови с меткой вносит грубую ошибку; из широкого наружного отверстия при заполнении камеры легко вытекает слишком боль-

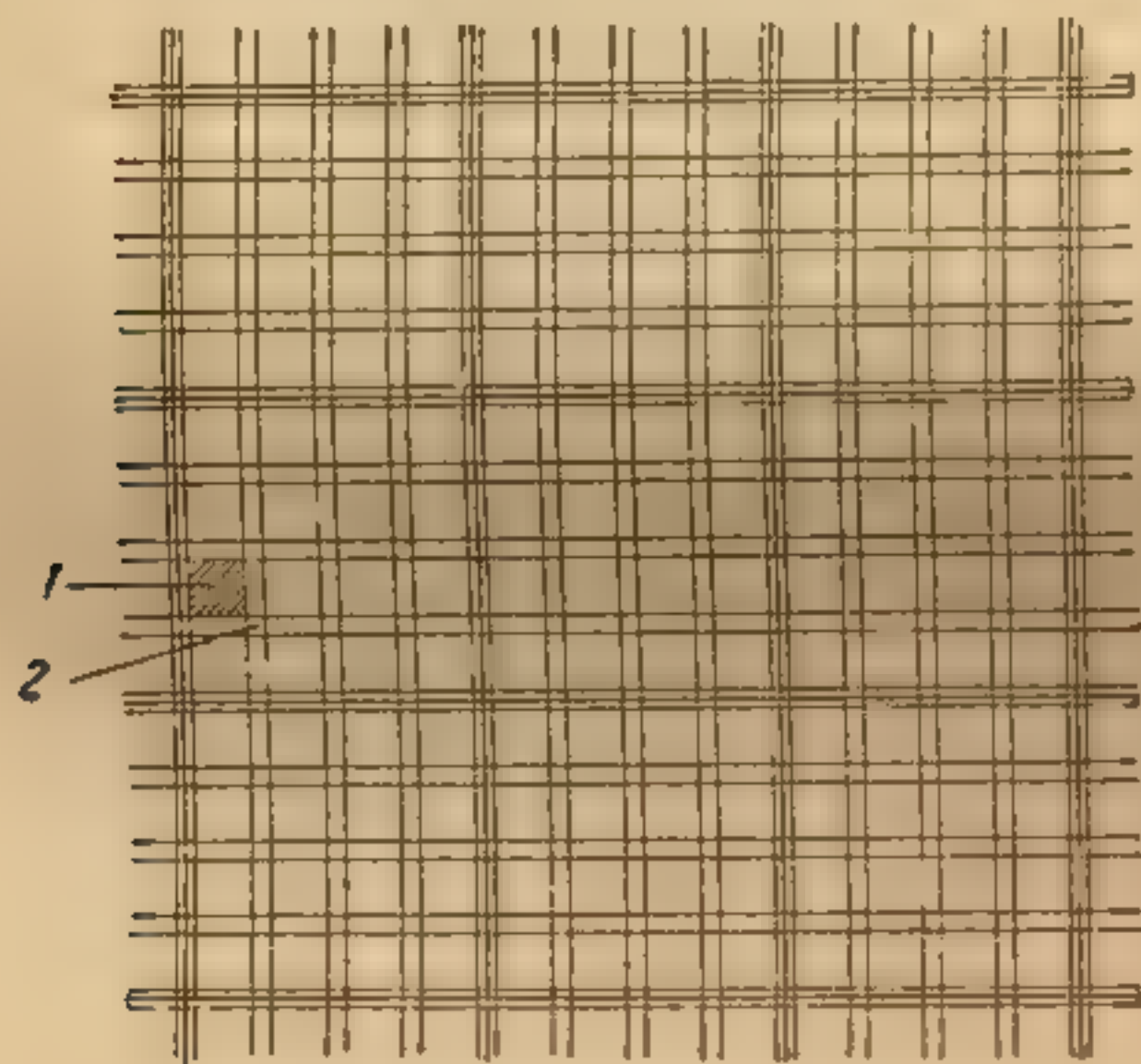


Рис. 9. Сетка Бюркера.

1 — большой квадрат; 2 — малый квадрат.  
Объяснение в тексте.

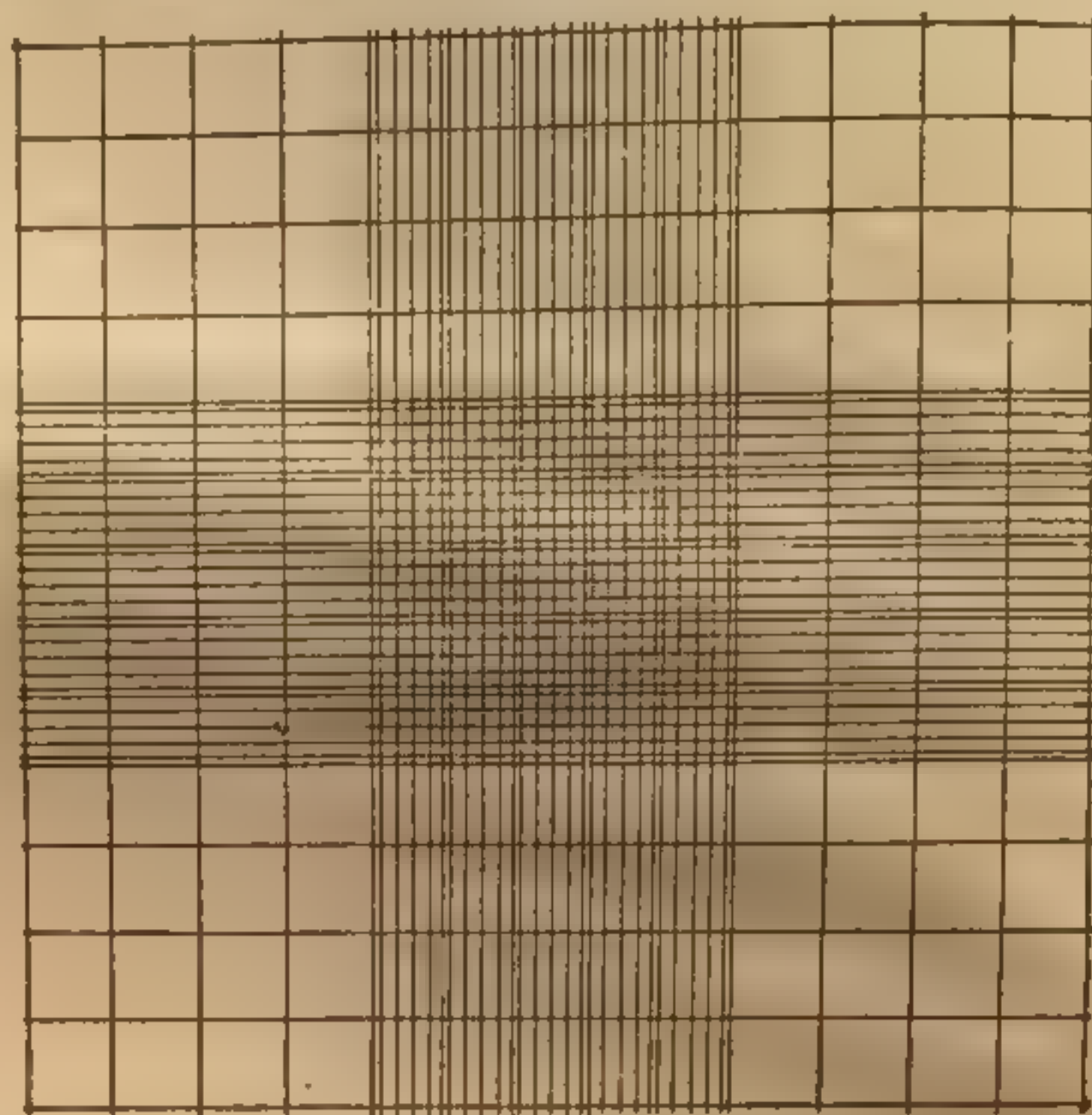


Рис. 10. Сетка Нейбауера.

шая капля крови. Наоборот, в слишком тонком стержне кровь быстрее свертывается, и его трудно очистить от попавшей с жидкостью соринки или сгустка крови. Верхняя метка стержня, а также метка над ампулой должны помещаться по возможности близко к последней, так как жидкость, вмещающаяся между меткой и ампулой, не участвует в разведении и может внести существенную ошибку, если ее много.

4) **Разводящие жидкости.** Разводящей жидкостью для подсчета эритроцитов обычно служит 0,85—1% раствор поваренной соли. Лучшие результаты в отношении сохранения формы эритроцитов дает жидкость Гайема: 5 г сулемы, 10 г хлористого натрия и 37,5 г сернокислого натрия растворяют в воде и доводят водой до 1 л. На все это количество рекомендуется прибавить 0,4 г какой-либо краски: метилвиолета или крезилблау, или толундинблау. Прибавление краски имеет то преимущество, что ею окрашиваются ядра лейкоцитов (в растворе, содержащем сулему), так что при подсчете в камере эритроцитов можно не вносить добавочной ошибки, присчитывая к ним также и лейкоциты. В неокрашенных жидкостях некоторое количество лейкоцитов (если не все), несомненно, попадает в счет, так как даже опытный глаз не всегда их различает. При нормальном соотношении между этими видами клеток — 5 000 000 и около 5 000 — эта ошибка ничтожна; но она может стать существенной, если у исследуемого имеется малокровие и одновременно лейкоцитоз. Кровь приблизительно нормального состава и при малокровии не больше средней степени разводят в 200 раз, т. е. на-



бирают ее только до метки 0,5. При сильных степенях малокровия (если количество эритроцитов уменьшено больше чем в два раза) набирают до метки 1,0 — разведение в 100 раз. Разводящая жидкость для подсчета лейкоцитов должна в одно и то же время делать эритроциты совершенно прозрачными (иначе эритроциты собираются в кучки, захватывая лейкоциты, и делают невозможным точный подсчет их) и не повреждать лейкоциты. Этой цели отвечает 3% уксусная кислота; целесообразно добавить к ней 1% водный раствор генцианвиолета в количестве 1 см<sup>3</sup> на 100 см<sup>3</sup> уксусной кислоты; ядра лейкоцитов этой краской ярко окрашиваются, так что их легче считать. Больше краски, чем здесь указано, прибавлять не следует, так как иначе смесители плохо отмываются. Лейкоциты обычно разводят в 20 раз (кровь набирают до метки 0,5), при лейкомиях с количеством лейкоцитов больше 80 000 в 1 мм<sup>3</sup> крови пользуются для подсчета смесителями для эритроцитов, набирая кровь до метки 1,0 (разведение в 100 раз).

5) **Техника взятия крови в смесители.** Делают укол в палец, как было указано выше. Только что выступившую из укола каплю крови насасывают точно до метки, тщательно вытирают ваткой, смоченной в эфире, или марлей кончик пипетки от приставшей снаружи крови. Проверяют, действительно ли кровь взята точно до метки. Для этой цели смеситель приводят в точно горизонтальное положение; иначе, в особенности если черта не обведена вокруг стержня, может получиться существенная ошибка. Тотчас, не вынимая трубки изо рта и остерегаясь втянуть кровь дальше внутрь смесителя, погружают кончик в соответствующую разводящую жидкость и начинают насасывать ее в смеситель. Жидкость заготавливают в солонках, причем обозначают всегда одинаковым образом назначение той и другой жидкости, чтобы не ошибиться при насасывании. Удобно также и по этим соображениям иметь различным образом окрашенные жидкости, как было указано выше. Смеситель держат сначала под углом и насасывают быстро, затем по мере заполнения ампулы переводят его в вертикальное положение и слегка вращают между пальцами, чтобы случайно образовавшийся пристеночный пузырек воздуха поднялся вместе с жидкостью и вышел за пределы ампулы, не нарушая точности разведения; насасывание производят в последней четверти очень медленно, чтобы закончить точно у верхней метки. Тотчас снимают резиновую трубку, захватывают смеситель между большим и средним пальцем и сильно встряхивают 2—5 минут в различных направлениях. Наполняют камеру и производят подсчет (см. ниже), после чего моют смеситель. Смесители рекомендуются мыть непосредственно после исследования. Для мытья нужно пользоваться водоструйным насосом. Кровь выдувают, смеситель многократно прополаскивают водой, спиртом и эфиром и затем несколько раз протягивают через него воздух; кроме водоструйного насоса, для набирания и выдувания жидкости и продувания воздуха пользуются безукоризненно чистым и сухим внутри резиновым баллоном емкостью 100—200 см<sup>3</sup>. Чисто вымытый смеситель при продувании воздуха быстро высыхает, в чем убеждаются по тому признаку, что шарик в ампуле не прилипает к стенке, а легко и со звоном перекатывается внутри нее. Не следует сушить смесители в термостате или сушильном шкафу, так как при этом высушиваются и грязные смесители.



Рис. 11.  
Смеситель для эритроцитов. Объяснение в тексте.



Если смесители нужно транспортировать, то проще всего предупредить выливание жидкости, заключив весь смеситель в резиновое кольцо; последнее легко сшить во всякой лаборатории из достаточно широкой толстостенной резиновой трубки (рис. 12).



Рис. 12. Транспортирование смесителя в резиновом кольце.

6) Техника наполнения камеры и подсчета форменных элементов. После заполнения смесителей желательно не откладывать подсчета; в особенности это относится к лейкоцитам, в которых возможен процесс аутолиза. При описании счетных камер уже было указано, как их следует заполнять. Непосредственно перед заполнением камеры смеситель опять сильно встряхивают 1—2 минуты, иначе взвесь будет неравномерной и результат подсчета неправильным. Затем, чтобы иметь уверенность, что кровь на сетку поступила именно из ампулы, а не из стержня, из смесителя выливают немного крови; лучше сделать это, проводя кончиком смесителя по фильтровальной бумаге, так как на последней легко увидеть, когда жидкость из стержня сменяется жидкостью из ампулы. После этого смеситель еще несколько раз встряхивают и заполняют камеру.

При подсчете сетки (рис. 13) во избежание двукратного подсчета одной и той же клетки, лежащей на границе двух соседних квадратов, следует руководствоваться следующим правилом: считают все клетки, расположенные как внутри квадрата, так и на пограничных линиях, но последние только в том случае, если они большей половиной заходят внутрь данного квадрата; клетки же, пересеченные пограничной чертой ровно пополам, считают только на двух из четырех границ, например, на верхней и правой; клетки, лежащие большей половиной вне данного квадрата, не считают вовсе.

Для подсчета красных кровяных клеток чаще пользуются малыми квадратами. В сетках Предтеченского, Горяева, Тома, Тюрка и аналогичных выбирают для этой цели большие квадраты, подразделенные на 16 малых; в сетке Бюркера малые квадраты расположены между большими. В квадратах, исчерченных только в одном направлении, например, только горизонтально или только вертикально, можно также подсчитывать эритроциты по длинным пространствам, равным каждое 4 малым квадратам. Поскольку источником ошибок часто является сосчитывание дважды одной и той же клетки, лежащей на границе между двумя квадратами, такой способ дает некоторые преимущества; но при очень большом количестве эритроцитов он может представить трудности.

Для получения точного результата в отношении эритроцитов достаточно сосчитать 5 больших (80 малых) квадратов. Так как, однако, несмотря на все предосторожности, равномерность кровяной взвеси легко нарушается, то необходимо сосчитать 2 разные капли. Лучше в случае спешки сосчитать по половине сетки из двух разных капель, чем целую сетку из одной капли. Чтобы избежать неточности, вследствие не вполне равномерного распре-

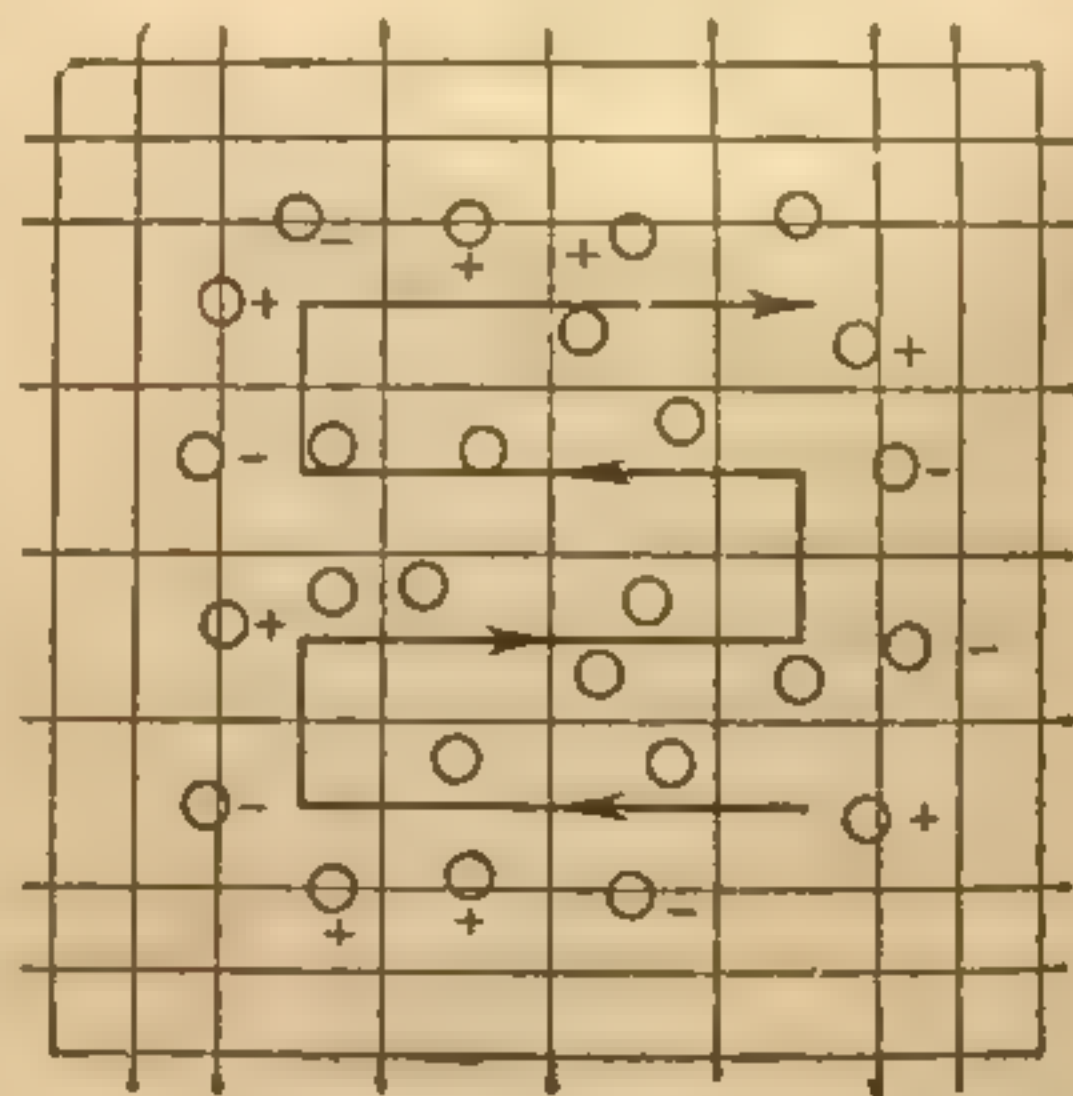


Рис. 13. Схема подсчета форменных элементов в камере. Объяснение в тексте. Крестом обозначены клетки, подлежащие счету, чертой — не подлежащие счету при подсчете данного квадрата.



деления крови в камере, выбирают для подсчета не 5 рядом лежащих квадратов, а продвигаются по всей сетке (рис. 13).

В сетке Бюркера малые квадраты лежат в местах пересечения пространств, разделяющих большие квадраты один от другого и окружающих всю сетку. Так как больших квадратов в одном ряду имеется 12, то таких пространств между ними и с обеих наружных сторон имеется 13. Чтобы сосчитать, как в других сетках, 80 малых квадратов, надо, следовательно, сосчитать малые квадраты в 6 рядах (расположенных не подряд) и еще 2 квадрата в каком-нибудь седьмом ряду.

Количество эритроцитов в  $1 \text{ мм}^3$  (искомое) вычисляют следующим образом. Во всех камерах, несмотря на различный рисунок, основными элементами являются маленькие квадраты, объем которых всегда равен  $\frac{1}{4000} \text{ мм}^3$ . Вычисление количества форменных элементов в  $1 \text{ мм}^3$  крови поэтому может быть проведено по единой для всех систем сеток формуле:

$$x = \frac{a \cdot 4000 \cdot s}{b},$$

где  $x$  — количество форменных элементов в  $1 \text{ мм}^3$ ;  $a$  — количество форменных элементов в определенном объеме камеры;  $b$  — количество сосчитанных маленьких квадратов;  $s$  — разведение крови.

При делении  $a$  на  $b$  мы узнаем, сколько в среднем находится кровяных клеток в 1 маленьком квадратике, т. е. в  $\frac{1}{4000} \text{ мм}^3$ , а в  $1 \text{ мм}^3$  форменных элементов будет в 4000 раз больше, для чего мы и умножаем на 4000. Кроме того, вносим поправку на разведение. Приведем несколько примеров.

1. В 80 маленьких квадратах насчитано 500 эритроцитов, откуда количество их в  $1 \text{ мм}^3$  равно:

$$\frac{500 \cdot 4000 \cdot 200}{80} = 5000000.$$

Так как обычно эритроциты считают в 80 маленьких квадратиках, то при разведении крови в 200 раз можно, не прибегая к формуле, всю сумму сосчитанных эритроцитов умножить на 10000:

$$\frac{4000 \cdot 200}{80} = 10000.$$

2. Количество лейкоцитов в сетке Тома — 40. В  $1 \text{ мм}^3$  крови лейкоцитов будет:

$$\frac{40 \cdot 4000 \cdot 20}{400} = 8000.$$

При разведении крови в 20 раз количество лейкоцитов в сетке Тома можно просто умножить на 200, а при разведении в 100 раз — на 100.

3. Количество лейкоцитов по всей сетке Бюркера — 360.

$$x = \frac{360 \cdot 4000 \cdot 20}{3600} = 8000,$$

где 3600 — количество малых квадратов во всей сетке без двух тройных линий.

Сокращая постоянные цифры последней формулы, т. е. разделив 3600 на 9 и умножив на 20, получаем:

$$\frac{3600}{9} \cdot 20 = 400 \cdot 20 = 8000.$$



Также вычисляется количество лейкоцитов в 1 мм<sup>3</sup> крови при счете их на всей площади сеток Горяева и Тюрка.

4. В 100 больших пустых квадратах сетки Горяева сосчитано 100 лейкоцитов:

$$x = \frac{100 \cdot 4\,000 \cdot 20}{1\,600} = 5\,000,$$

где 1 600 — количество малых квадратов в 100 больших. Сокращая постоянные цифры формулы, получим  $100 \cdot 50$ , т. е. всю сумму сосчитанных лейкоцитов нужно умножить на 50. При подсчете лейкоцитов в 4 больших угловых квадратах сетки Тюрка и сетки Бюркера (т. е. в 100 больших квадратах или 1 600 маленьких) все количество лейкоцитов также умножают на 50.

Если наполненную уже кровью камеру почему-либо нельзя использовать тотчас же, то ее во избежание подсыхания (особенно это относится к камере Бюркера, не закрытой герметически) помещают во влажную камеру (закрытую чашку Петри, в которую вложена мокрая фильтровальная бумага).

По окончании всего исследования необходимо тотчас вытереть камеру сухой тонкой тряпкой. Если кровь успевает засохнуть, то приходится мыть камеру водой, между тем всякое лишнее трение вредно отражается на рисунке сетки.

7) Пределы точности подсчета форменных элементов крови. Ошибка при подсчете, как и при любом другом исследовании, может быть тройного происхождения: от неточности аппаратуры, от неопытности лаборанта и от недостатков способа как такового. Первая ошибка, очевидно, требует только проверки всей аппаратуры (в данном случае смесителей и камер), вторая ясна сама собой; наибольший интерес представляют неточности, связанные с методикой как таковой и поэтому неустранимые.

При изучении описанных выше способов подсчета оказалось, что при подсчете эритроцитов ошибка может достигать  $\pm 2 - 3\%$ , в среднем  $\pm 2,5\%$ , т. е., получив цифру в 5 000 000 эритроцитов, нужно считать, что истинное число лежит между 5 375 000 и 4 625 000; учитывая частоту ошибок, можно принять, что оно, вероятно, содержится уже между 5 250 000 и 4 750 000. Для научных целей нужно считаться с удвоенной средней ошибкой, т. е. опытный лаборант, работая с проверенными приборами, сосчитает эритроциты с точностью до  $(2 \times \pm 2,5\% =) 10\%$ . При подсчете лейкоцитов неизбежная ошибка значительно больше. Средняя ошибка составляет  $\pm 6 - 8\%$ , в среднем  $\pm 7\%$ ; следовательно, получив цифру в 5 000, нужно считать, что истинное количество находится между 6 050 и 3 950, а с большой степенью вероятности уже между 5 700 и 4 300. Рассуждая, как выше, мы должны принять для точных научных работ, что опытный лаборант при подсчете лейкоцитов делает ошибку в 30%.

При учете влияний на количество форменных элементов какого-либо воздействия (утомления, воздушного давления, лекарств и т. д.) часто возникает вопрос, можно ли полученную разницу приписывать действию исследуемого фактора или же она лежит еще в пределах ошибки методики. Чтобы ответить на этот вопрос, нужно вычислить абсолютную величину средней ошибки. Она вычисляется по формуле:

$$U^2 = \frac{d_1^2 + d_2^2 + d_3^2 \dots d_n^2}{n - 1},$$



где  $U$  — средняя ошибка,  $d_1, d_2, d_3 \dots$  — разность между отдельными цифрами и средней арифметической величиной и  $n$  — количество подсчетов.

Предположим, что было получено до применения какого-либо воздействия 5 000, после него 7 000 лейкоцитов. Как было указано, средняя ошибка для опытного лаборанта при подсчете лейкоцитов составляет  $\pm 6 - 8\%$ , в среднем возьмем для простоты  $\pm 7,1\%$ ; разность между двумя счислениями соответствует средней ошибке в  $\pm \sqrt{7,1^2 + 7,1^2} = \pm \sqrt{100} = \pm 10\%$  (знаменатель в формуле отпадает, если производится только 1—2 подсчета каждой величины). Удвоенная средняя ошибка при средней арифметической в 6 000 соответствует, следовательно, 1 200, т. е. меньше полученной разницы. Можно предполагать, следовательно, что эта разница действительно вызвана применением испытываемого фактора.

## ОКРАСКА МАЗКОВ

1) Техника приготовления мазка. Сухие мазки можно готовить либо на покровных, либо на предметных стеклах. Мазки на покровных стеклах имеют то несомненное преимущество, что в них сосчитывается вся капля крови, тогда как на предметном стекле — всегда только часть капли. Между тем отдельные форменные элементы распределяются на мазке далеко не равномерно, и, несмотря на все существующие правила подсчета, уменьшающие проистекающие отсюда ошибки, результат подсчета формулы всегда получается в той или иной степени искаженным (подробнее см. ниже). Тем не менее, вследствие того, что работа с предметными стеклами значительно проще и дешевле, они приняты во всех диагностических лабораториях; мазки на покровных стеклах следовало бы оставить хотя бы для научных работ. В дальнейшем вслуду имеются в виду мазки на предметных стеклах. Предметные стекла должны быть тщательно обезжирены, иначе мазки получаются ноздреватые. Особенно это относится к стеклам, уже бывшим в употреблении и соприкасавшимся с кедровым маслом. Рекомендуются тотчас по окончании работы стирать масло бензином или по крайней мере насухо вытирать чистой тряпочкой. Для обезжиривания стекла кипятят в горячем мыльном растворе, затем промывают водопроводной и дистиллированной водой и высушивают спиртом и эфиром. Вытирать стекла можно только тряпочкой, не оставляющей волокон, лучше всего шелковой; хранить их следует в стеклянном стакане или банке, но не в картонной коробке. Брать стекло пальцами можно только за ребра, отнюдь не за поверхность.

Для размазывания капли пользуются покровным или, лучше, шлифованным предметным стеклом, несколько более узким, чем первое (можно осторожно срезать углы). Держа предметное стекло за длинные ребра, прикасаются им, отступя 1,5—2 см от узкого конца, к поверхности капли (отнюдь не к коже), кладут на стол, берут в руку второе стекло, узким краем ставят на первое под углом около  $45^\circ$  слева от капли, слегка продвигают его вправо, чтобы привести с ней в соприкосновение, выжидают, пока капля расплывется по всему ребру, и легким быстрым движением ведут стекло справа налево, пока капля не будет исчерпана (рис. 14). При медленном размазывании ухудшается равномерность распределения лейкоцитов в мазке. При нажимании стеклом на стекло многие клетки оказываются поврежденными. Если угол между стеклами меньше  $45^\circ$ , то большое количество лейкоцитов скопится в конце мазка. Величина капли должна быть соразмерена так, чтобы весь



мазок помещался на стекле, не доходя 1—1,5 см до его конца (рис. 15 и 16). Никогда не следует прекращать размазывания и отнимать стекло раньше, чем капля будет исчерпана. Хорошо сделанный мазок имеет желтоватый цвет и просвечивает; густо розоватые и красноватые мазки непригодны для счета, так как лейкоциты в них деформированы, а эритроциты лежат один на другом.

Если была взята слишком большая капля, то после того, как она распространилась по ребру второго стекла, последнее приподнимают, пере-



Рис. 14. Техника приготовления мазка на предметном стекле. Объяснение в тексте.

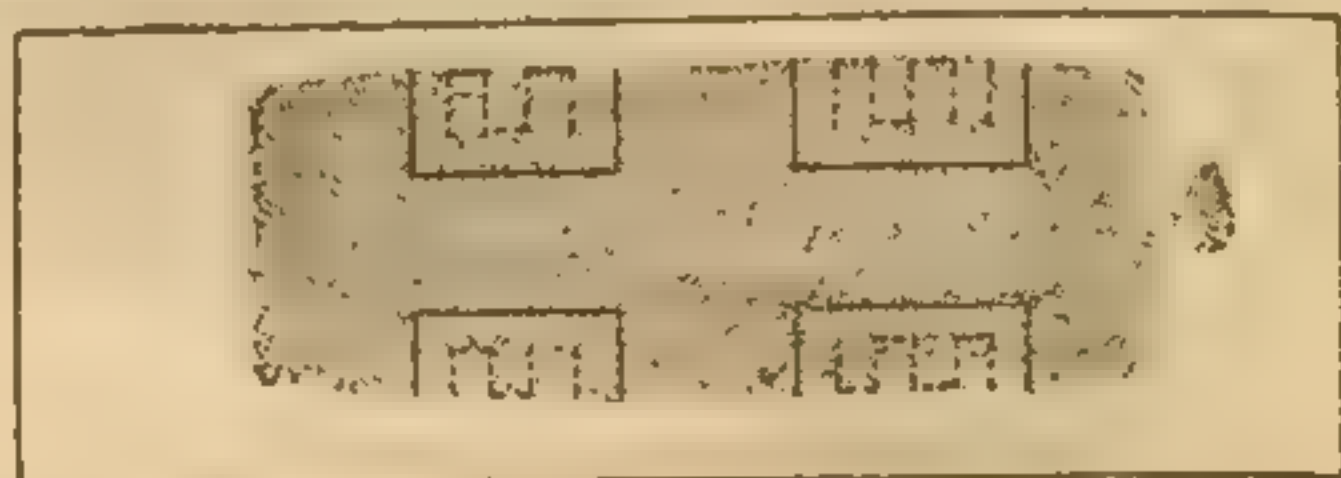


Рис. 15. Правильно сделанный мазок крови с обозначенными на нем линиями для подсчета лейкоцитарной формулы. Объяснение в тексте.

носят на несколько миллиметров влево, вновь ставят на первое стекло и уже отсюда начинают делать мазок.

По окончании размазывания мазок тотчас сушат: взяв стекло пальцами за длинные ребра намазанной стороной книзу, помахивают им по воздуху до исчезновения влажного блеска. Высыхание должно произойти быстро, так как иначе страдают клетки.



Рис. 16. Неправильно сделанные мазки крови: верхний сделан на необезжиренном стекле, слишком толст, внезапно обрван; нижний сделан слишком широким стеклом, так что не имеет краев, нужных для подсчета формулы, и слишком толст.

На сухом мазке, по середине его, булавкой, кончиком чистого пера, иглой Франка, уголком другого предметного стекла, простым карандашом и т. п. пишут фамилию больного, а если нужно, то и дату взятия крови. Исходя из того, что летом мазки сильно повреждаются мухами, нужно убирать их, если дальнейшая обработка откладывается.

**2) Фиксация мазка.** Высохший на воздухе мазок погружают для фиксации в хорошо закупоренную широкогорлую банку с фиксирующей жидкостью, предпочтительно метиловым алкоголем (на 3 минуты; если мазок был сделан не в этот день, а раньше, то лучше держать его в

метиловом спирте только 2 минуты), или же абсолютным спиртом, или смесью из равных частей спирта и эфира (20—30 минут) и др. Метиловый спирт (метанол) должен быть высокого качества, т. е. хорошо очищенный от различных примесей: это важно для последующей окраски, в особенности для шюфнеровской зернистости эритроцитов (см. „Малария“). Лучше, если погружена только намазанная часть стекла. По окончании фиксации стекло вынимают пинцетом за не погруженный в жидкость конец, ставят в вертикальном положении на фильтровальную бумагу и после испарения спирта окрашивают. Фиксирующая жидкость в банке может служить неограниченно долго.



3) Окраска азур-эозиновыми смесями<sup>1</sup>. Для окраски мазка азур-эозиновой смесью можно пользоваться продажной краской Романовского-Гимза в количестве 2 капель на каждый 1 см<sup>3</sup> дистиллированной воды; продолжительность окраски 20—30 минут.

Можно также приготовить аналогичную краску в лаборатории: растворяют отдельно 1 г азура II в 1 л свежeproкипяченной дистиллированной воды и 1 г эозина в таком же количестве воды. Краски хранят каждую отдельно; эти растворы практически неограниченно стойки, так же как и продажная краска. Для окрашивания отмеривают в безукоризненно чистом цилиндре требуемое количество дистиллированной воды из расчета около 2,5—3 см<sup>3</sup> на каждый мазок, прибавляют в нее по 4 капли эозина на каждый 1 см<sup>3</sup>, смешивают, прибавляют столько же азура, опять смешивают. Рабочий раствор готовят перед самым употреблением, хранить его нельзя. Продолжительность окраски 25—30 минут. Первые же окрашенные мазки покажут, правильно ли была составлена краска: если ядра лейкоцитов окрашиваются бледно, следует брать не 4, а больше капель азура; если эритроциты и зернистость эозинофилов имеют синеватый оттенок, берут больше эозина; точно так же при осмотре мазка выясняется требуемая продолжительность окраски. Цвет смеси в тонком слое (например, налитой на предметное стекло) должен быть не чисто синий, а иметь слабо выраженный фиолетовый оттенок.

Другой способ получения азур-эозиновой смеси состоит в том, что готовят слабо щелочный раствор метиленовой синьки: 1 г краски на 100 см<sup>3</sup> 0,5% раствора углекислого натрия; раствор ставят на 2 суток в термостат при 37°, повторно взбалтывая; затем держат еще 3—5 дней в темном месте при комнатной температуре. При такой обработке в растворе метиленовой синьки образуется азур. Одну часть этого раствора разводят 9 частями воды; этот раствор, так же как и первый, стоек. Вторым раствором, как и в предыдущем способе, служит 1% раствор эозина. Рабочий раствор краски готовят на один день. В безукоризненно чистый цилиндр отсчитывают 6 капель 1% раствора синьки, доливают приблизительно до 2,5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, смешивают, наливают 6 капель эозина, смешивают; общее количество должно составлять 3 см<sup>3</sup>. 6 капель краски соответствует 0,4 см<sup>3</sup>. Если требуется приготовить сразу краску на большее количество мазков, то проще отмеривать ее градуированной пипеткой (для каждой краски отдельная пипетка). Красят, как описано ниже, 15—20 минут.

При помощи этой смеси можно варьировать окраску до щелочной, взяв на те же 6 капель синьки только 2—3 капли эозина, и до резко щелочной, если синьки взято 12 капель на 2—3 капли эозина. Слабо щелочная смесь, например, дает лучшие результаты при окраске малярийных паразитов.

Для окраски специально эозинофилов лучше пользоваться двухмоментным способом: готовят отдельно растворы из 4 капель эозина в 3 см<sup>3</sup> воды и из 6 капель синьки в других 3 см<sup>3</sup> воды; красят эозином 5 минут, сливают, наливают второй раствор, красят 5 минут, сливают, ополаскивают водой и т. д.

<sup>1</sup> Развитие этого метода началось с открытия С. П. Романовского (1891), состоявшего в том, что в смеси метиленовой синьки с эозином протоплазма окрашивается в синие оттенки, а ядра — в красные; между тем как при раздельном применении этих красок синька окрашивает ядра в синий, а эозин — протоплазму в розовый цвет. Оказалось, что при стоянии смеси этих красок образуется особое вещество, обладающее указанными свойствами (азур). Для приготовления краски по принципу Романовского был предложен ряд методов — Райта, Дженнера, Гимза, Паппенгейма и т. д.



Окраска по Райту. Способ приготовления: 1% раствор основной метиленовой синьки на 0,5% водном растворе двууглекислого натрия наливается в сосуд таким образом, чтобы высота слоя жидкости не превышала 6 см, и нагревается в аппарате Коха при 100° в течение 1 часа (с момента образования пара). Затем жидкость охлаждается и фильтруется. Охлажденный фильтрат в тонком слое при искусственном освещении должен иметь пурпурно-красный оттенок. К 100 см<sup>3</sup> фильтрата прибавляется 500 см<sup>3</sup> 0,1% водного раствора эозина (желтоватого, растворимого в воде). При смешивании обеих жидкостей тотчас образуется обильный осадок; последний отфильтровывается и высушивается. Полученная таким образом краска растворяется в ступке в метиловом спирте в соотношении 0,1:60,0.

Способ окраски: на сухой нефиксированный мазок наливается несколько капель краски, спустя 1 минуту прибавляется столько же капель дистиллированной воды; через 2—3 минуты препарат промывается в воде (около полуминуты), пока он в тонком слое не приобретет розоватого оттенка. Результат окраски: благодаря наличию азура получается вишнево-красная окраска ядер и выявляется азурофильная зернистость как в лейкоцитах, так и в лимфоцитах; особенно четко выступает при способе Райта зернистость в моноцитах. Несколько уступая окраске по Романовскому-Гимза и азур-эозиновой смесью в отношении окраски азуром, окраска Райта имеет все преимущества способа Май-Грюнвальда и Дженнера в отношении четкости окраски зернистости нейтрофилов, эозинофилов и особенно базофилов.

Окраска по Май-Грюнвальду. Окраска эозиновокислой метиленовой синькой (Дженнер и Май-Грюнвальд) не содержит азура. Препарат не должен быть предварительно фиксирован, так как смесь эозиновокислой метиленовой синьки растворена в метиловом спирте, который одновременно и фиксирует. Можно получать готовую краску в растворе; кроме того, она имеется в порошке и таблетках, которые растворяются в чистом, свободном от ацетона метиловом спирте (1 таблетка на 10 см<sup>3</sup> метилового спирта).

Способ окраски: препарат покрывается определенным количеством краски (предметное стекло — 2 см<sup>3</sup>, покровное — 0,5 см<sup>3</sup>); фиксация препарата происходит в продолжение 2—3 минут. Прибавляется столько же дистиллированной воды, сколько прежде было налито краски. Окрашивание препарата происходит в течение 5—10—15 минут. Краска должна быть предварительно хорошо смешана с водой; это делается путем всасывания и выдувания жидкости пипеткой. Препарат промывается в дистиллированной или простой воде, пока не станет розоватым. Производится высушивание фильтровальной бумагой.

Эритроциты окрашиваются в красивый розовый цвет; хорошо выделяется более или менее резкая полихромазия и базофильная зернистость, зернистость базофильных и эозинофильных лейкоцитов, а также нейтрофильная зернистость; ядра же окрашиваются плохо — в бледно-голубой цвет.

Прекрасные результаты дает комбинированная окраска по способу Паппенгейма: все важные части клетки хорошо окрашиваются и ясно выделяются. Этот способ отличается от предыдущих тем, что не требует предварительной фиксации мазка. На нефиксированный мазок наливают не разведенный водой раствор краски Май-Грюнвальда и оставляют ее 3 минуты; затем приливают на мазок столько же воды, сколько было взято краски, окрашивают 1 минуту, сливают; не ополаскивая мазка, наливают на него краску Романовского-Гимза, приготовленную из



расчета 15 капель краски на 10 см<sup>3</sup> воды, окрашивают 10—12 минут и ополаскивают сильной струей воды. Препарат должен быть розовым.

Вся посуда (цилиндр, пипетки), служащая для приготовления краски, должна быть безукоризненно чистой. По окончании разливания краски всю посуду тотчас многократно ополаскивают водой. Если на цилиндре все же образовался осадок краски, то для приготовления азур-эозиновых смесей им можно продолжать некоторое время пользоваться, не отмывая осадка: окраска от этого не страдает, для отмывания же приходится пользоваться кислотой, которую необходимо очень тщательно удалять. Новую посуду необходимо продержать сутки в кислой смеси (см. „Мытье химической посуды“), тщательно ополоснуть и затем обработать паром, чтобы она не отдавала щелочи.

Для окрашивания мазка предметное стекло кладут на 2 стеклянные палочки, помещенные поперек четырехугольного (или круглого) стеклянного лотка (рис. 17). Краску наливают на стекло возможно более высоким слоем—высота слоя благоприятно влияет на окраску. Окрашивание продолжается обычно 20—30 минут; необходимую продолжительность окраски укажут первые же мазки. По окончании окраски краску сливают, ополаскивают мазок струей дистиллированной воды и сушат в вертикальном положении, как описано раньше. Для изучения с иммерсией мазок должен быть совершенно сухим. Обсушивание фильтровальной бумагой нежелательно. Если окраска слишком интенсивна, наливают на препарат немного метилового алкоголя и почти тотчас сливают. Если препарат плохо окрашен, его можно обесцветить метиловым алкоголем и окрасить вновь.

Просмотр мазка для суждения о качестве окраски производят без иммерсии, чтобы не класть на него масло.

Для получения хорошей окраски чрезвычайно важно иметь воду соответствующей реакции. Обычно реакцию воды испытывают следующим образом: к 10 см<sup>3</sup> дистиллированной воды прибавляют 2—3 капли свежеприготовленного спиртового раствора гематоксилина: не ранее 1 минуты и не позднее 5 минут вода должна окраситься в слабофиолетовый цвет. Если вода не окрашивается, реакция ее слишком кислая. В этом случае к ней прибавляют по каплям 1% раствор углекислого натрия и снова испытывают реакцию. Найдя нужное количество капель, подщелачивают соответственно некоторый запас воды. Значительно реже в лаборатории имеется слишком щелочная вода, окрашивающаяся раньше 1 минуты.

4) **Окраска ретикулоцитов.** а) **Суправитальная (агональная) окраска.** В отличие от обычных окрашенных мазков, где окраске подвергается высохшая кровь, клетки которой уже умерли, при этом способе окрашивают еще свежую кровь, откуда и название этого способа. Термин „вита́льная окраска“, применявшийся раньше, служит для обозначения другого приема, которым широко пользуются в экспериментальной технике, — прижизненного впрыскивания подопытному животному

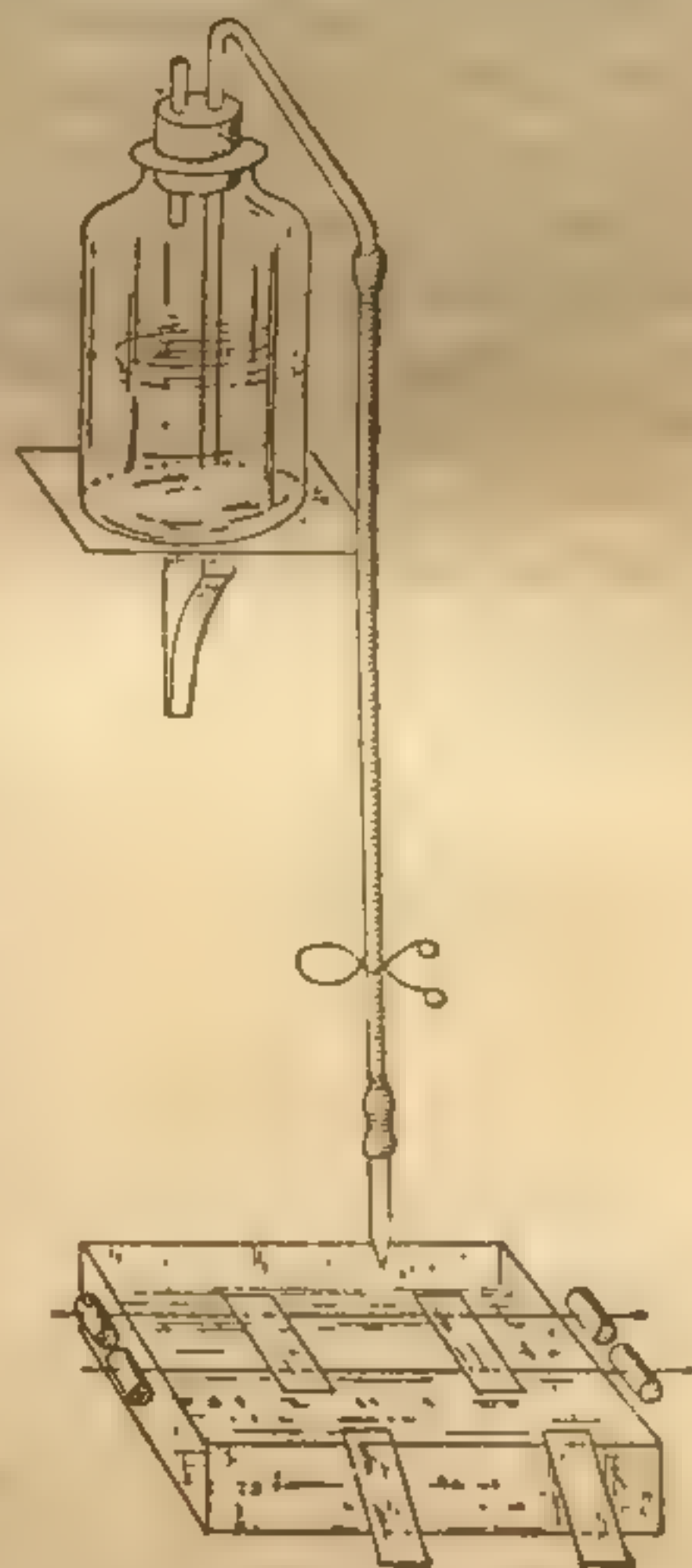


Рис. 17. Удобный самодельный прибор для окраски мазков. В бутылку налита дистиллированная вода.



раствора краски с последующим изучением избирательного окрашивания отдельных клеток; кроме того, термин „суправитальная окраска“ отражает то, что окрашиваемые клетки уже нежизнеспособны. Наиболее удобен, в особенности при массовой работе, следующий способ. Приготавливают насыщенный раствор краски бриллиант-крезилблау в абсолютном спирте — для насыщения достаточно взять около 1,2 г на 100 см<sup>3</sup> спирта. Можно также пользоваться другими основными красками, например, азур I или азур II, или метиленовой синькой в тех же пропорциях (последняя окрашивает более медленно). На безупречно вымытое и тщательно обезжиренное (подогретое) предметное стекло стеклянной палочкой кладут близ правого узкого края небольшую каплю краски и другим стеклом размазывают ее по стеклу совершенно так же, как было описано для капли крови при изготовлении сухого мазка. Краска тотчас высыхает, и стекло готово к употреблению. Такие стекла можно заготавливать впрок, причем, чтобы облегчить в дальнейшем распознавание, на какую сторону стекла нанесена краска, эту сторону помечают цветным карандашом. На приготовленном таким образом стекле размазывают каплю крови совершенно так же, как для сухого окрашенного мазка, но в отличие от последнего тотчас, не давая просохнуть, кладут мазок во влажную камеру. Таковой может служить обычная чашка Петри с крышкой, в которую вложена не слишком обильно смоченная фильтровальная бумага. Бумагу лучше свернуть валиком и положить вдоль ребра чашки. Во влажной камере мазок остается несколько минут, после чего ему дают высохнуть на воздухе. Этот же мазок может служить для подсчета формулы, изучения морфологии клеток и т. п. Для этого суправитально окрашенный мазок подвергают обычной фиксации и окраске.

На мазке, окрашенном только бриллиант-крезилблау, эритроциты окрашены в желтовато-зеленоватый цвет. На отдельных эритроцитах не трудно заметить тонкую синюю сеточку (рис. 18), либо располагающуюся по всей клетке, либо образующую более густой клубок в центре ее, иногда очень нежную и скудную, иногда грубую и обильную (см. ниже). Эта сеточка носит название зернисто-сетчатой, нитчато-сетчатой (гранулофиламентозной) или ретикулярной субстанции, а самые клетки в последнее время принято для краткости обозначать ретикулоцитами.

Можно получить окраску ретикулоцитов и на сухом мазке. На очень тонкий мазок, не фиксируя его, наливают леффлеровскую метиленовую синьку, красят 5 минут, сливают; смывают, приливая осторожно по каплям воду. Гемоглобин выщелачивается, но строма эритроцитов остается и можно разглядеть в ней нитчато-сетчатую субстанцию; последняя выступает еще ярче, если препарат, высушенный обычным образом (стекло ставят в косом положении на фильтровальную бумагу), фиксируют 3 минуты метиловым спиртом или проводят 5 раз через пламя и погружают на 2 минуты в карболовый раствор генцианвиолета (см. „Мокрота“) или разведенную пополам мансоновскую синьку (см. „Малярия“). Сеточка выступает менее ясно, чем при суправитальной окраске, но счисление вполне возможно, особенно на препаратах, окрашенных генцианвиолетом. На препаратах, окрашенных синькой, можно считать лейкоцитарную формулу даже без докрасивания. Для лиц менее опытных рекомендуется докрасить препарат азур-эозиновой смесью.

б) Подсчет ретикулоцитов производится таким образом, что в поле зрения сосчитывают все количество эритроцитов и отмечают, сколько в этом же поле зрения ретикулоцитов. Чтобы облегчить сосчи-



тивание, поле зрения сильно суживают, вкладывая внутрь окуляра кусочек бумаги с вырезанным в ней небольшим окошечком. Мазок должен быть тонким. Считают в разных участках мазка; сосчитывают 1 000 эритроцитов. Результат подсчета выражают в процентах. В нормальной крови взрослого человека содержится 0,5—0,8% ретикулоцитов: у детей в первые дни жизни количество их очень велико — до 10%, но затем оно уменьшается и не превышает 5%.

в) Диагностическое значение этого исследования весьма велико. Хотя мнения о природе ретикулярной субстанции до сих пор расходятся, однако все исследователи согласны с тем, что ретикулоциты — молодые, не вполне зрелые красные клетки. Появление их в периферической крови указывает на усиленную работу костного мозга. Путем подсчета ретикулоцитов убеждаются прежде всего в том, что костный мозг способен к повышенной деятельности: малое количество, до почти полного отсутствия, ретикулоцитов при наличии малокровия говорит за апластический тип анемии. Этим способом можно также получить ценные указания относительно эффективности той или иной терапии малокровия. В особенности широко пользуются суправитальной окраской для контроля за ходом лечения при злокачественном малокровии. Обычно уже через несколько дней после начала лечения тем или иным препаратом печени или сырой печенью в периферической крови появляется огромное количество ретикулоцитов; эти состояния обозначают как ретикулоцитарные кризы.

Значительно реже терапевтический эффект не сопровождается таким кризом; но все же это возможно, так что отсутствие быстрого нарастания ретикулоцитов не свидетельствует еще о рефрактерности случая в отношении печеночной терапии.

Малое количество ретикулоцитов и отсутствие нарастания их, несмотря на все терапевтические мероприятия, являются неблагоприятным признаком, так как говорит за ослабление функции костного мозга.

Резкий ретикулоцитоз отмечается при гемолитической желтухе, при том без соответствия тяжести клинической картины.

Еще более ценные диагностические указания можно получить, если не ограничиться подсчетом всех ретикулоцитов, а изучить отдельные формы их более подробно, поскольку упомянутый выше различный характер сеточки — не случайное явление, а соответствует возрасту эритроцитов. К наиболее молодым клеткам относятся ретикулоциты с густым комкообразным скоплением нитчато-сетчатого вещества в центре, напоминающим ядро; самая клетка при этом обычно несколько увеличена, протоплазма ее бледная. Этот вид ретикулоцитов встречается только при значительно повышенной деятельности костного мозга. Если на мазке много подобных клеток, то можно сказать с полной уверенностью, что у больного имеется очень тяжелое малокровие (злокачественное малокровие, гемолитическая желтуха, лейкемия, начинающаяся раковая кахексия и т. п.). В крови здоровых таких клеток нет. Эритроциты, содержащие сплетение нитей, идущих по всем направлениям, иногда в виде нескольких отдельных частей, появляются в периферической крови при умеренно усиленном кроветворении и встречаются в большом количестве на мазке при так называемых вторичных анемиях. Наконец, эритроциты, содержащие только зернышки, иногда всего 2—3 в клетке, и, реже, единичные ниточки, означают небольшое раздражение костного мозга. Под влиянием различных вмешательств (переливания крови, лекарств) раздражение костного мозга может стать слабее, так что преобладающим будет второй тип клеток, а не первый. Таким образом, взгляд на суправитально



окрашенный препарат может дать представление о состоянии костного мозга и о вызвавшем это состояние заболевании.

При суправитальной окраске хорошо окрашиваются также и малярийные плазмодии, так что ею пользуются и для этой цели.

**5) Окраска базофильной зернистости эритроцитов.** а) Техника окраски. Количество эритроцитов с базофильной зернистостью, выявляемое на окрашенном мазке, в значительной степени зависит от способа фиксации и окраски. Наилучший результат дает фиксация в течение 3 минут в метиловом спирте высокого качества с последующей окраской метиленовой синькой. Состав краски: 1% водный раствор перед употреблением разводят из расчета 5 капель краски на 20 см<sup>3</sup> водопроводной воды. Краску наливают на препарат высоким слоем; окрашивают 1 час, смывают водой. Подсчет производится так же, как в отношении ретикуловцитов (рис. 19).

б) Диагностическое значение. Эритроциты с базофильной зернистостью встречаются при многих заболеваниях, характеризующихся распадом эритроцитов, а также вообще при более тяжелых степенях малокровия. При малокровиях после кровотечения они появляются относительно редко, если кровотечение было наружным, и чаще, если имелось внутреннее кровоизлияние с последующим распадом клеток внутри организма и всасыванием гемоглобина. Обычно их в большом количестве находят при малярии, при злокачественном малокровии; их появление наиболее характерно для свинцового отравления, особенно в острой стадии. Надо подчеркнуть, однако, что в некоторых случаях тяжелого свинцового отравления эритроцитов с базофильной зернистостью не удается обнаружить, так что отсутствие их не исключает этого заболевания. Единичные базофильнозернистые эритроциты встречаются и в нормальной крови, поэтому считают возможным поставить диагноз свинцового отравления, если их имеется не менее 1 на 10 000. Практически это означает, что имеется 1 базофильнозернистый эритроцит на 50 полей зрения, так как хорошо изготовленный мазок имеет около 200 эритроцитов в поле зрения. Это правило, однако, нельзя применять слишком строго. Если у ряда рабочих данного предприятия можно найти базофильнозернистые эритроциты, хотя бы и в меньшем количестве, чем 1 на 10 000, но в то же время значительно чаще, чем у здоровых людей, работающих в других условиях, то эти данные, конечно, заслуживают серьезного внимания.

**6) Окраска телец Гейнца.** При некоторых отравлениях (бертолевой солью, анилином и его производными) в эритроцитах можно обнаружить тельца круглой формы, так называемые тельца Гейнца, которые представляют собой дегенеративно измененную часть протоплазмы. В одном эритроците чаще бывает 1, реже 2—3 таких включения. Они лучше всего обнаруживаются при окраске свежей капли крови метилвиолетом. Краску готовят, растворяя 1 г метилвиолета в 100 см<sup>3</sup> 0,6% водного раствора хлористого натрия. Каплю крови берут на предметное стекло, прибавляют к ней каплю краски, покрывают покровным стеклом и помещают на 1—2—3 часа во влажную камеру; после более продолжительного стояния удастся обнаружить большее число телец Гейнца. Нахождение телец Гейнца имеет большое значение для распознавания названных выше отравлений. Эти тельца очень хорошо окрашиваются в толстой капле по методу Фрейфельд, но без фиксации (Смирнова Л. Г.)<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Лабораторная практика, 1932.



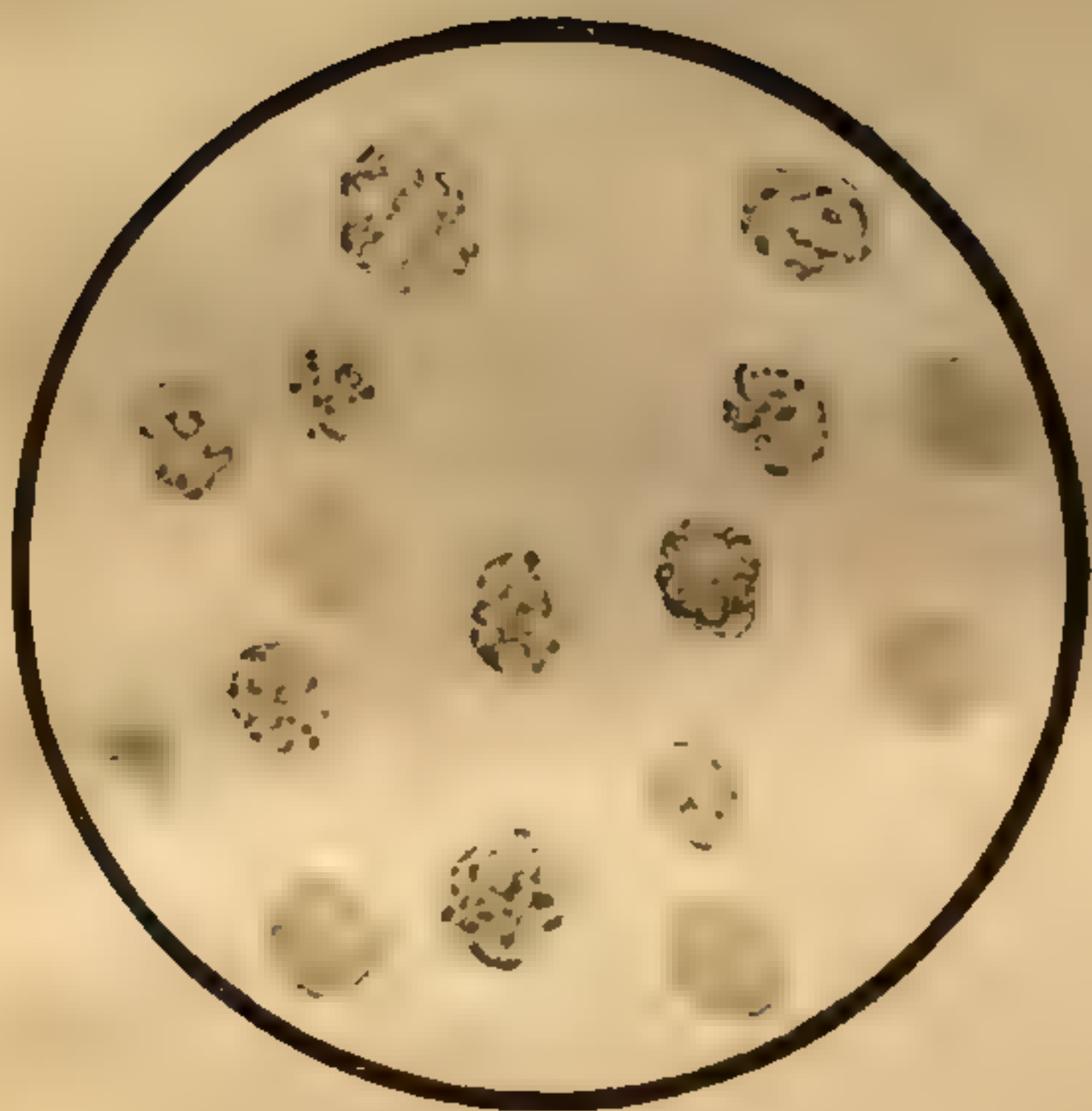


Рис. 18. Ретикулоциты при витальной окраске.

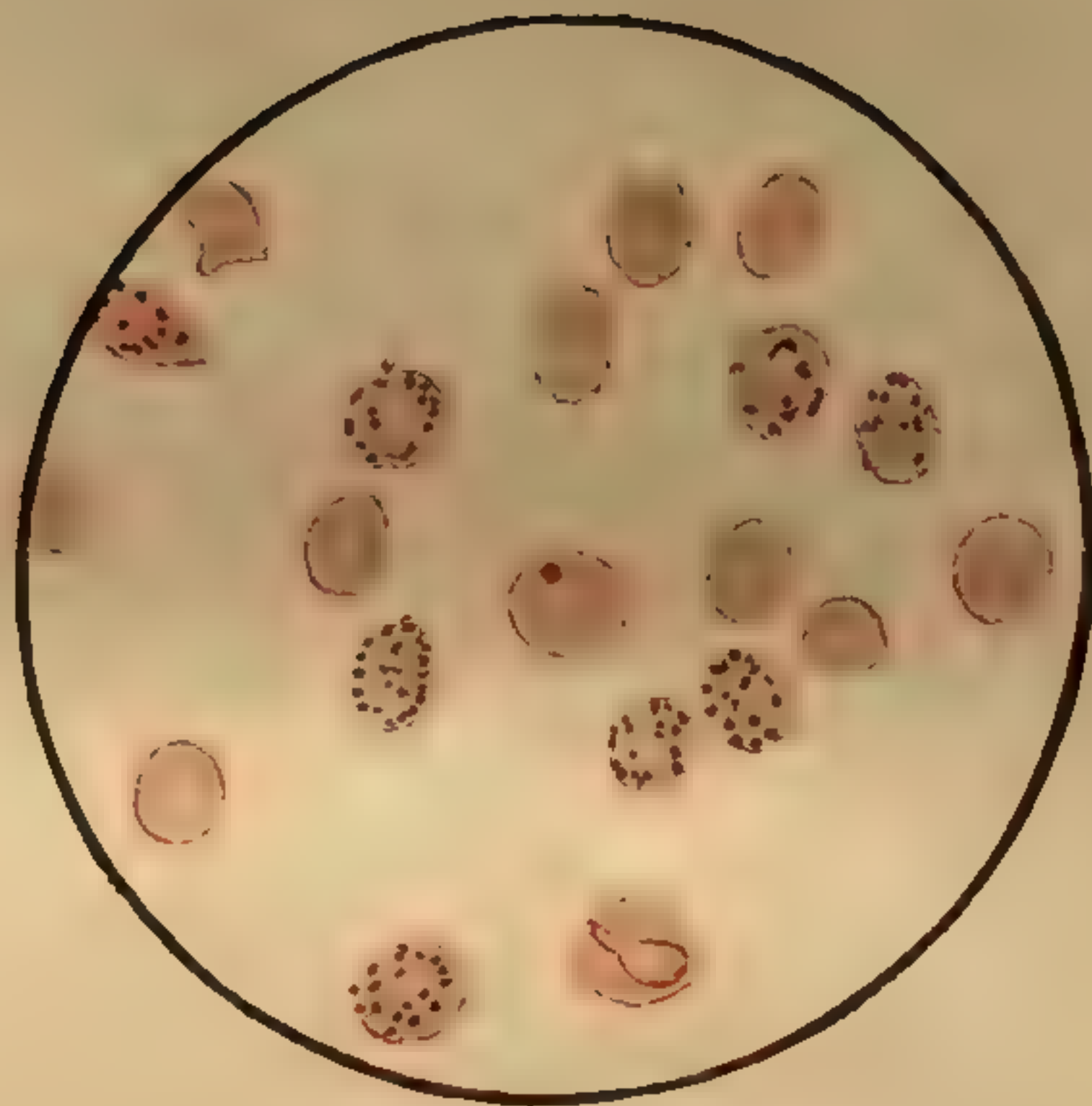


Рис. 19. Базофильная зернистость эритроцитов, тельца Жолли и кольца Кебота.

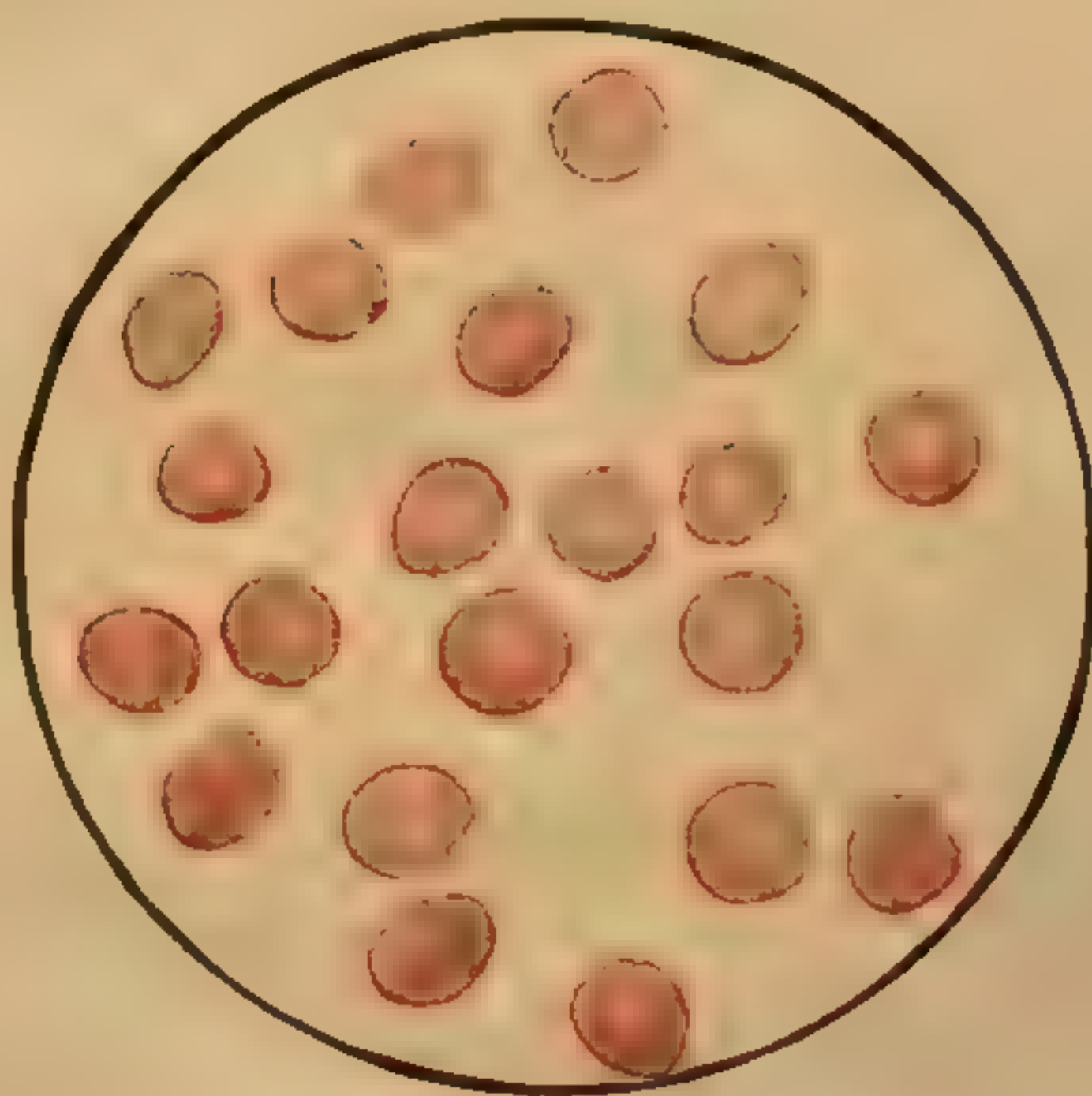


Рис. 20. Эритроциты нормальной крови.







7) Оксидазная и пероксидазная реакции. а) Оксидазная реакция. Реактивы: 1) фиксирующая жидкость: 1 часть 40% формальдегида и 9 частей 95% спирта; фиксируют несколько секунд; или смесь из равных частей того же формальдегида и абсолютного спирта; фиксируют 15—20 минут; 2) краска: 1 г  $\alpha$ -нафтола растворяют при нагревании в 100 см<sup>3</sup> 1% раствора едкого кали; растворяется только часть краски, перед употреблением нужное количество отфильтровывают; раствор стоек; 3) 1% водный раствор диметилпарафенилендиамина; раствор нестойк, поэтому рекомендуется развесить порошок небольшими порциями и хранить их в запаянных ампулах, растворяя только перед употреблением.

Препарат покрывают слегка разведенным раствором  $\alpha$ -нафтола, окрашивают 3 минуты; не смывая и не осушивая препарата, наливают раствор диметилпарафенилендиамина; окрашивают несколько минут. Докрашивают разведенным карболфуксином (см. „Мокрота“). Окраска препарата нестойка.

Хорошие результаты дает также другая модификация. Краски: 1) 1 г  $\alpha$ -нафтола растворяют в 100 см<sup>3</sup> физиологического раствора хлористого натрия и прибавляют 1 см<sup>3</sup> п/10 раствора едкого натра; 2) 1 г парадиметилпарафенилендиамина растворяют в 100 см<sup>3</sup> физиологического раствора хлористого натрия; 1 часть первой краски смешивают с 4 частями второй; фильтруют.

Мазок фиксируют в смеси из равных частей абсолютного спирта и 40% формальдегида, красят 3 минуты, докрашивают азур-эозиновой смесью, изучают под микроскопом с водной иммерсией.

После изучения препараты можно высушить; они довольно долго сохраняют окраску.

б) Пероксидазная реакция. Реактивы: 1) фиксирующая жидкость: 1 часть 40% формалина и 9 частей 95% спирта; 2) раствор бензидина; к 10 см<sup>3</sup> 40% спирта прибавляют несколько крупинок бензидина и 0,02 см<sup>3</sup> 3% перекиси водорода (удобно отмеривать пипеткой от гемометра Сали); фиксированный препарат слегка ополаскивают водой, покрывают раствором бензидина; через 4 минуты сливают. Можно докрасить препарат метиленовой синькой или азур-эозином. Окрашиваются только свежие препараты; окраска стойка.

Цель обеих реакций одна и та же: получить в нейтрофилах и эозинофилах характерную зернистость, при первой реакции темносинюю, при второй — золотисто-коричневую или, если воздействие бензидина было коротким, синеватую; ту же реакцию дают незрелые базофилы — базофильные миелоциты. Лимфоциты этой реакции не дают, вследствие чего можно отличать молодые формы гранулоцитов (миелобласты) от молодых форм лимфоцитов, что иногда трудно без помощи этой реакции в некоторых случаях лейкозиев (отличие острых миелобластических лейкозиев от лимфатических). Однако самые молодые формы миелобластов тоже не дают этой реакции; кроме того, при некоторых инфекционных заболеваниях часть нейтрофилов тоже перестает ее давать; поэтому отрицательный результат реакции имеет меньшую диагностическую ценность, чем положительный. Моноциты, обычно не все, дают слабоположительную реакцию.

Имеется еще способ, который не требует специальных красок и реактивов, и все нужные для него ингредиенты стойки и могут быть заготовлены впрок: препарат фиксируют парами иода и окрашивают леффлеровской метиленовой синькой. Мазок должен быть очень тонким. В стеклянную солонку наливают около 10 капель иодной настойки. На



стекло, служащее крышкой, помещают посредине каплю воды величиной с булавочную головку. Покровное стекло, не фиксируя мазка, кладут ненамазанной стороной на эту каплю и слегка прижимают, что удерживает стекло с мазком на месте. Кладут стекло намазанной стороной на солонку и мазок подвергают действию паров иода в среднем в течение 5 минут (при низкой температуре в комнате — несколько больше, в теплой комнате — меньше). Осторожно снимают покровное стекло с крышки и окрашивают мазок 5 минут леффлеровской синькой; смывают краску сильной струей воды и высушивают фильтровальной бумагой. Хорошо окрашенные препараты имеют слегка коричневатый оттенок. Препарат можно заключить в канадский бальзам или кедровое масло. Эритроциты окрашены в желтоватый, все ядра лейкоцитов — в темносиний цвет. Протоплазма лимфоцитов светлоголубая с тонкими синими перекладинами. В нейтрофилах зернистость от светло- до краснокоричневой, в эозинофилах — от черно-коричневой до черной; в протоплазме части моноцитов (не во всех) видны светлокоричневые зерна более мелкие, чем в нейтрофилах. Миелоциты и миелобласты тоже дают эту реакцию.

Если зерна кажутся черными и сливаются между собой, то нужно сделать новый препарат и подвергнуть его действию иодных паров на более короткий срок; при слишком слабой реакции требуется, наоборот, более продолжительное воздействие.

8) **Токсическая зернистость нейтрофильных лейкоцитов.** При подсчете лейкоцитарной формулы все внимание главным образом сосредоточено на изменениях ядер нейтрофильных лейкоцитов. Между тем совершенно ясно, что при патологических состояниях различным изменениям должна подвергаться также и протоплазма клеток. При различных инфекционных заболеваниях в протоплазме и зернистости нейтрофилов удается обнаружить определенные изменения, которые никогда не обнаруживаются в нормальной крови. Эти изменения при обычных окрасках краской Гимза и заменяющими ее смесями азура и эозина выявляются недостаточно надежно. Лучшие результаты дают специальные окраски.

а) **Окраска по Фрейфельд<sup>1</sup>.** Краски: 1) 1 г основного фуксина (применяемого для окраски туберкулезных бацилл) растворяют при нагревании в 15 г 96° спирта, по охлаждении добавляют 100 см<sup>3</sup> 5% раствора карболовой кислоты; 2) 1% водный раствор метиленовой синьки. Обе краски хранят в отдельности, они практически неограниченно стойки. Перед употреблением изготовляют рабочую смесь, для хранения непригодную: к 20 см<sup>3</sup> водопроводной воды приливают 7 капель первой краски, смешивают, прибавляют 5 капель второй краски, снова смешивают. Мазок крови, приготовленный, как обычно, и фиксированный в течение 3 минут метиловым спиртом, кладут на параллельные стеклянные палочки, краску наливают высоким слоем, окрашивают в течение 1 часа; сливают краску, ополаскивают водой, высушивают, как обычно. Препарат, окрашенный по Романовскому-Гимза, может быть окрашен по этому способу без предварительного раскрашивания, и наоборот. Эта окраска выявляет токсические изменения в протоплазме нейтрофильных лейкоцитов. В протоплазме видна синеватая сеточка со всеми переходами к образованию крупных комочков; в других случаях вся клетка кажется усеянной мелкими пылевидными зернышками. При этой окраске хорошо видны также тельца Деле — крупные, синеватые глыбки, обычно не более одной в каждом нейтрофиле, встречающиеся при инфекционных заболеваниях (скарлатине, воспалении легких и др.).

<sup>1</sup> См. Фрейфельд Е. И., Гематология, 1947.



б) Окраска по Момсену. Окрашивание производится краской Романовского-Гимза, но при такой степени кислотности, когда нормальная зернистость нейтрофильных лейкоцитов не окрашивается вовсе, тогда как токсическая зернистость окрашивается. Степень кислотности должна быть строго определенной и всегда одна и та же; это может быть достигнуто только путем применения буферных растворов. Состав буферного раствора: отмеривают точно 21,6 см<sup>3</sup> нормального раствора едкого натра, приготовленного из хорошего препарата по всем правилам приготовления нормальных растворов едкого натра, и 27 см<sup>3</sup> нормального раствора химически чистой уксусной кислоты в мерную колбу емкостью в 1 л, в которую предварительно наливают до половины дистиллированную воду; смешивают, доводят водой до метки; рН этого раствора равен 5,4. Раствор краски: 1 см<sup>3</sup> продажной краски смешивают с 4 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и прибавляют 5 см<sup>3</sup> буферного раствора. Препарат, фиксированный в метиловом спирте, кладут в отличие от ранее описанных способов намазанной стороной вниз. Помещают на дно две стеклянных палочки, кладут на них препарат и спускают под него краску из пипетки. Окрашивание продолжается 1 час, после чего краску сливают, препарат ополаскивают тем же буферным раствором и высушивают, как обычно. Автор этой окраски и другие, работавшие по этому способу, отмечают диагностическое и прогностическое значение выявленной ею токсической зернистости при заболеваниях, связанных с интоксикацией. В частности, при дифтерии патологическая грануляция постепенно нарастает, достигая максимума на 5—6—9-й день; между патологической грануляцией и температурой соответствия не отмечается; введение сыворотки не оказывает на нее влияния. При скарлатине патологическая грануляция обнаруживается во всех случаях, достигая максимума (в тяжелых случаях до 100%, т. е. все нейтрофильные лейкоциты имеют патологическую грануляцию, притом более резко выраженную, чем в доброкачественных случаях) на 7—8-й день, считая со дня высыпания; появление осложнения вызывает новое нарастание патологической грануляции, которая достигает максимума на несколько дней позднее. Левый сдвиг при этом имеется во всех случаях, но параллелизма между изменениями ядра и изменениями зернистости нет. Общее количество нейтрофилов при нарастании количества клеток с патологической грануляцией несколько уменьшается. При кори патологическая грануляция тоже описывает кривую, достигая максимума на 5—7-й день, притом тем раньше, чем благоприятнее течение болезни; патологическая грануляция при кори никогда не достигает такой интенсивности, как при скарлатине. Такое же соотношение между характером течения болезни и моментом максимального развития грануляции отмечается и при ветряной оспе. При краснухе патологическая грануляция обнаруживается только в более тяжелых случаях и не достигает значительной степени. При пневмонии патологическая грануляция наблюдается во всех случаях, достигая максимума (100%) после кризиса, после чего количество нейтрофилов с патологической грануляцией прогрессивно падает, исчезая окончательно на 3—4-й неделе; осложнения вызывают новые подъемы кривой. В отношении левого сдвига, а также общего количества нейтрофилов были отмечены те же соотношения, что и при скарлатине. Повидимому, кривая нарастания патологической грануляции имеет при различных заболеваниях неодинаковое течение.

в) Окраска по Шмелеву. В СССР проф. Н. А. Шмелев, исходя из того, что Момсеном было отмечено свойство нормальной нейтрофильной зернистости не окрашиваться в кислых растворах Романовского-Гимзы



(рН = 5,4), а патологической как более грубой и крупной — окрашиваться, предлагает видоизменение метода Момсена для дифференцировки патологической зернистости от нормальной.

Применением буферного раствора вместо дистиллированной воды достигается точная неизменная реакция растворов краски. Буферную смесь фосфатов готовят из 0,15 молярных растворов дифосфата и монофосфата. Для этого 11,876 г дифосфата натрия ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) разводят в 1 л дистиллированной воды. Монофосфата калия ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) берется 9,078 г на 1 л дистиллированной воды (отвешивают на химических весах). Для получения буферной смеси нужной реакции с азур-эозиновой смесью берется 1 см<sup>3</sup> дифосфата и 9 см<sup>3</sup> монофосфата. Азур-эозиновая смесь готовится из 1‰ водного раствора азура II (1 г на 1 л воды) и 1‰ водного раствора эозина (1 г на 1 л воды).

Для приготовления раствора краски в фосфатной смеси отмеривается азур II и эозин не каплями, а кубическими сантиметрами (величина капли бывает различной); кроме того, при отмеривании больших количеств легко сбиться в счете, и окраска идет не гладко. Отмеривание кубическими сантиметрами дает всегда одинаковые результаты. На 10 см<sup>3</sup> фосфатной буферной смеси нужно взять 2,5 см<sup>3</sup> водного раствора азура II и 1,5 см<sup>3</sup> водного раствора эозина.

Ход окраски таков: 1) фиксация метиловым алкоголем — 4 минуты, 2) окраска азур-эозиновой смесью фосфатной буферной смеси — 1 час (как обычно, на мостике, мазком вверх); 3) быстрее обмывание дистиллированной водой (лучше буферной смесью); 4) просушивание фильтровальной бумагой (обязательное в случае обмывания водой).

При правильной окраске мазка, наряду с нейтрофилами, протоплазма которых содержит зерна, встречаются клетки с совершенно гомогенной розовой протоплазмой (нормальные). Для контроля можно посоветовать взять мазки от тяжело больного и здорового человека.

Количество нейтрофилов с патологической зернистостью необходимо выражать числом, а не одним указанием, много их или мало. При изложенной окраске вполне можно дифференцировать клетки для счета лейкоцитарной формулы и учитывать изменения ядра нейтрофилов и наличие в их протоплазме патологической зернистости. Счет нейтрофилов с патологической зернистостью производится по отношению к числу сосчитанных нейтрофилов, а не на 100 нейтрофилов; например, получаются такие данные: всех нейтрофилов — 70%, палочкоядерных — 10%, сегментоядерных — 60%, патологически зернистых — 45%. Эти данные не нуждаются ни в каких пересчетах, а группа нейтрофилов получает законченную характеристику.

### ИЗУЧЕНИЕ ОКРАШЕННОГО МАЗКА

Тщательное изучение хорошо приготовленного и окрашенного мазка совместно с определением количества гемоглобина может сделать обязательным подсчет форменных элементов в камере при сокращенном анализе. Количество лейкоцитов с достаточной для диагностических выводов точностью можно при некотором навыке определить, просмотрев весь мазок со средним увеличением. Само собой разумеется, что в тех случаях, когда производятся повторные наблюдения над изменениями белой крови, например, при аппендиците, подсчет производится в камере. Что касается эритроцитов, то при нормальном или незначительно пониженном количестве гемоглобина достаточно дать заключение (по хорошо окрашенному мазку), имеется ли соответствие между количеством гемо-

Рис. 21. М



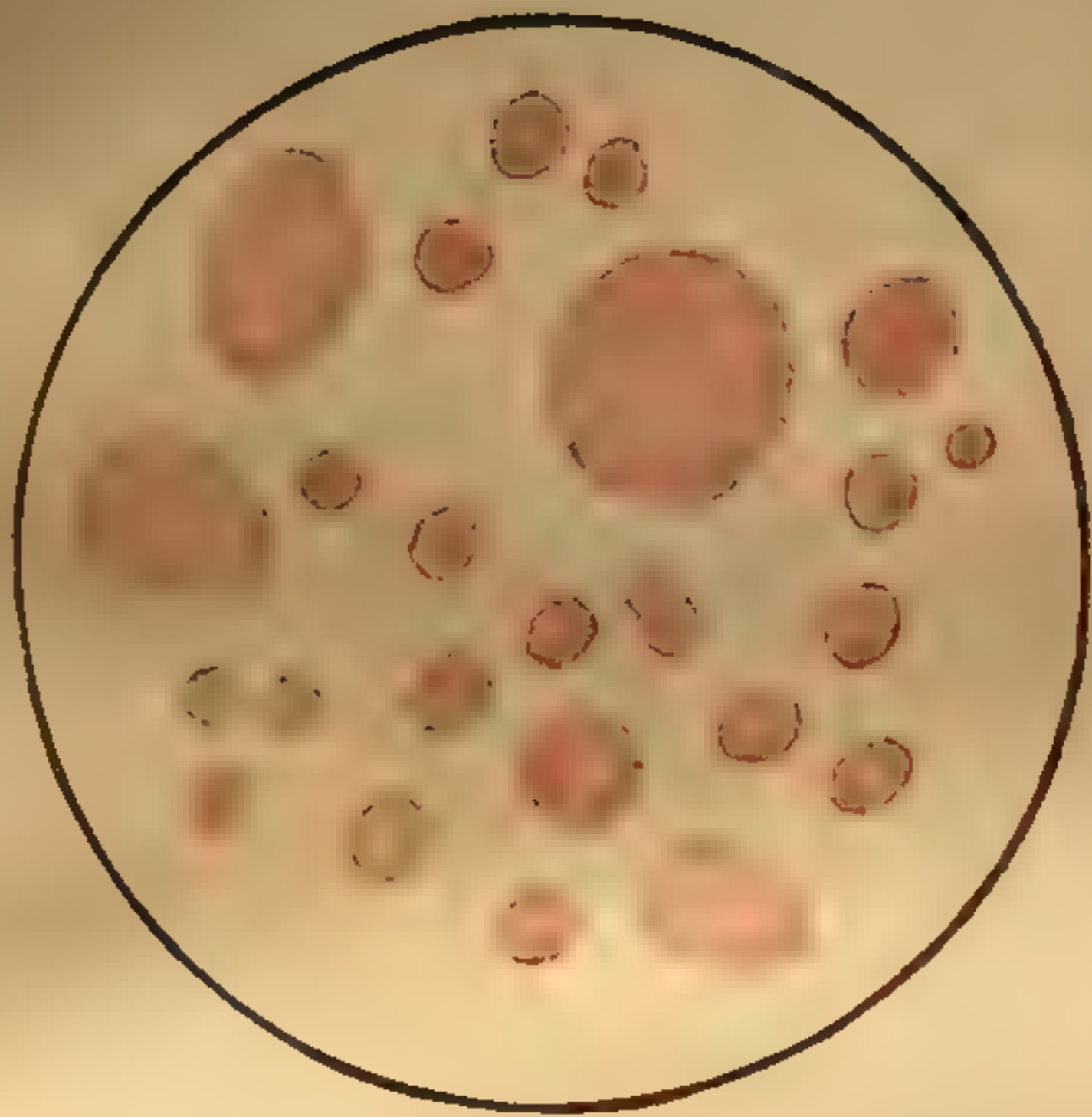


Рис. 21. Микро-, макро- и мегалоциты.

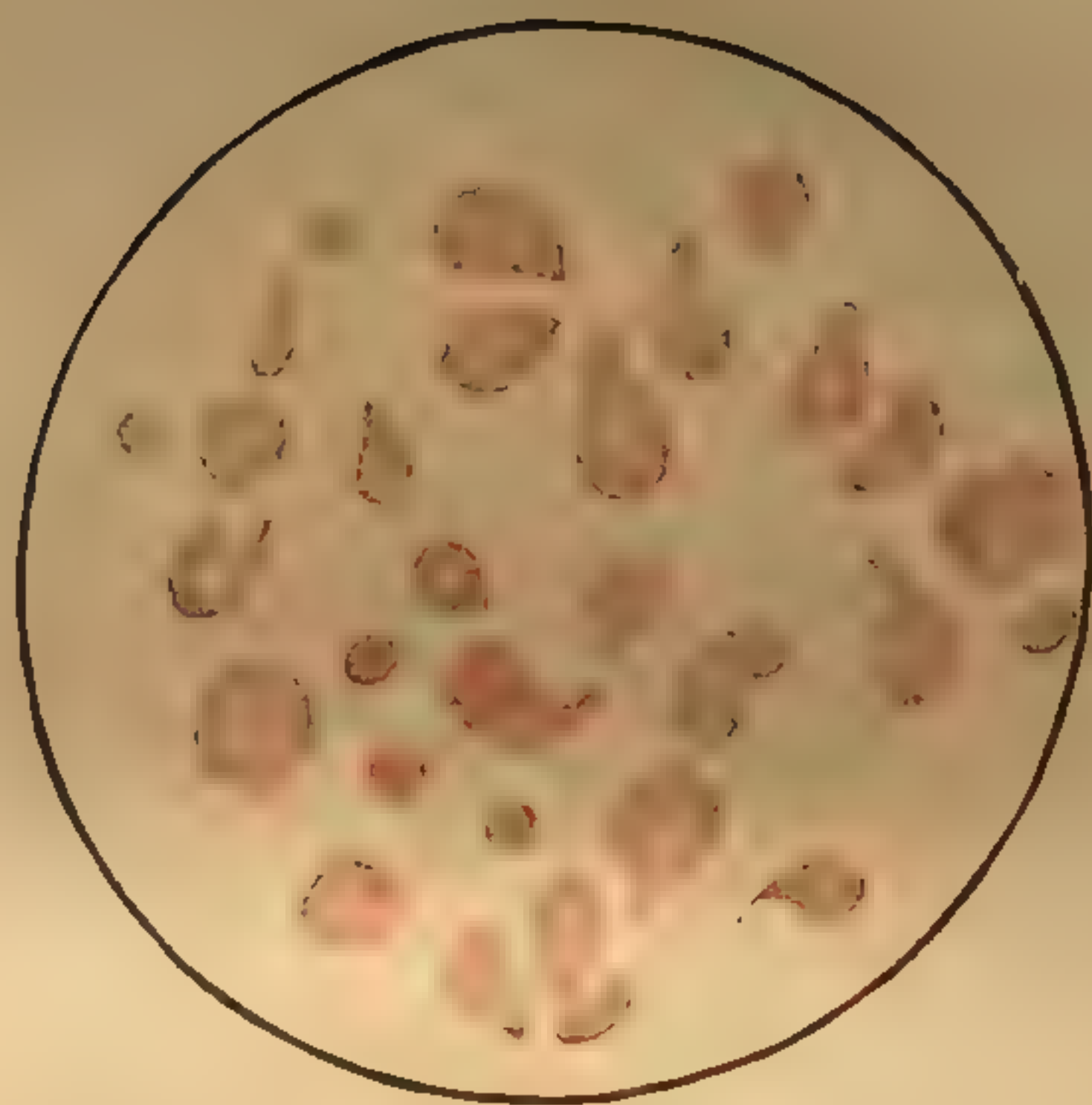


Рис. 22. Анизоцитоз и пойкилоцитоз.

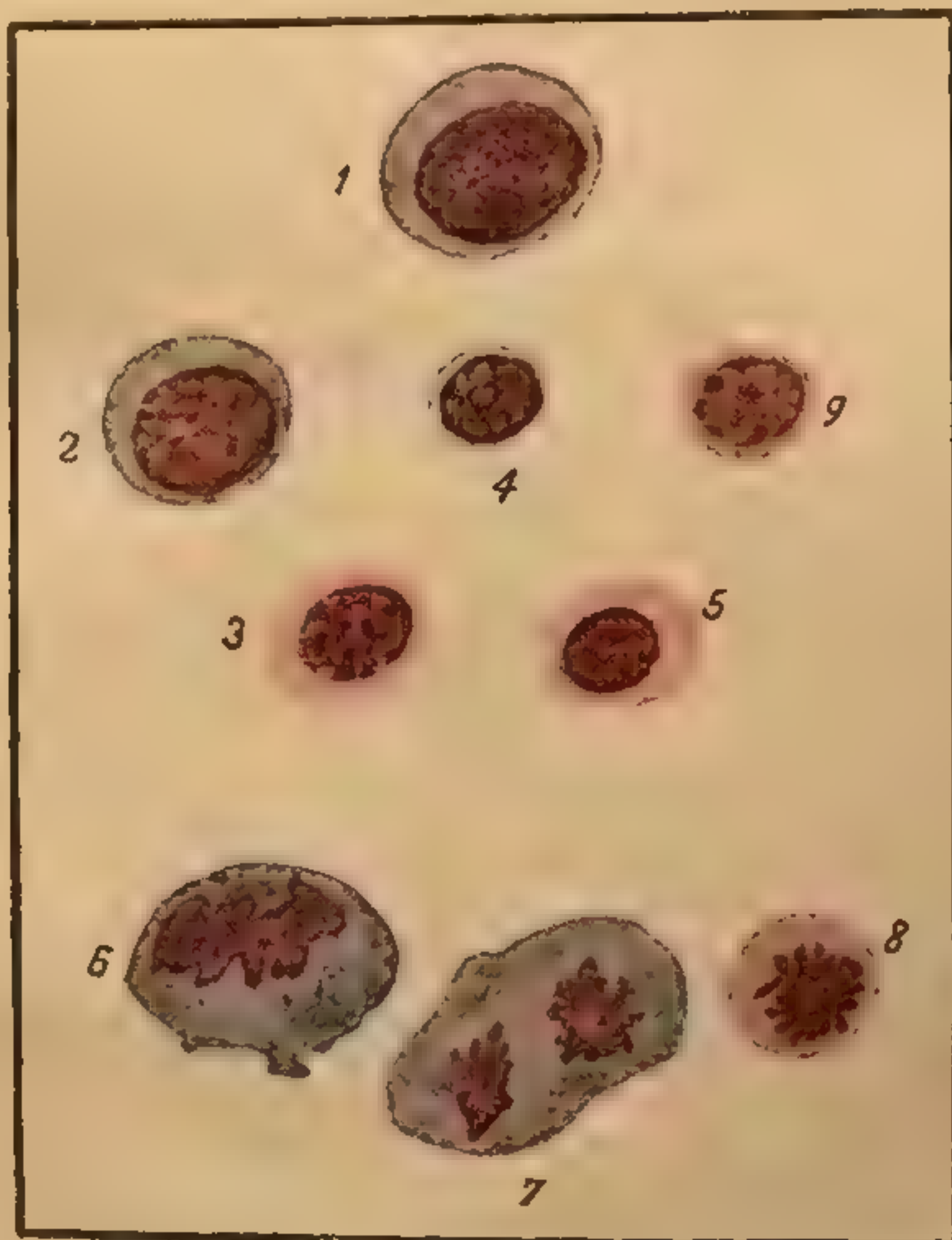


Рис. 23. Эритробласты (нормобласты).

1, 2 — базофильные эритробласты; 4, 9 — полихроматофильные эритробласты; 3, 5 — оксифильные эритробласты; 6, 7, 8 — эритробласты в стадии митоза.



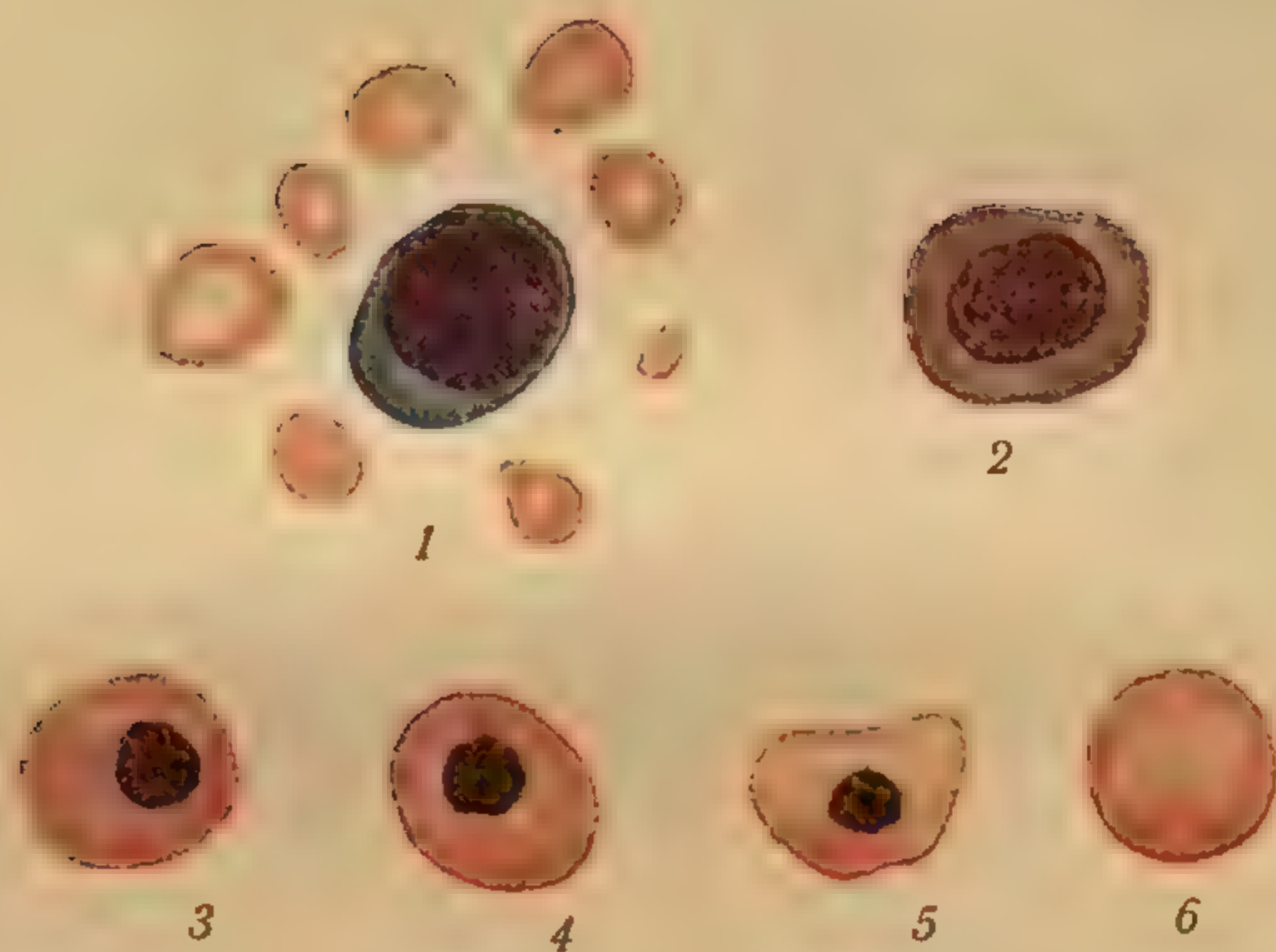


Рис. 24. Мегалобласты и мегалоцит.  
 1 — базофильные; 2 — полихроматофильные; 3, 4, 5 — оксифильные; 6 — мегалоцит.

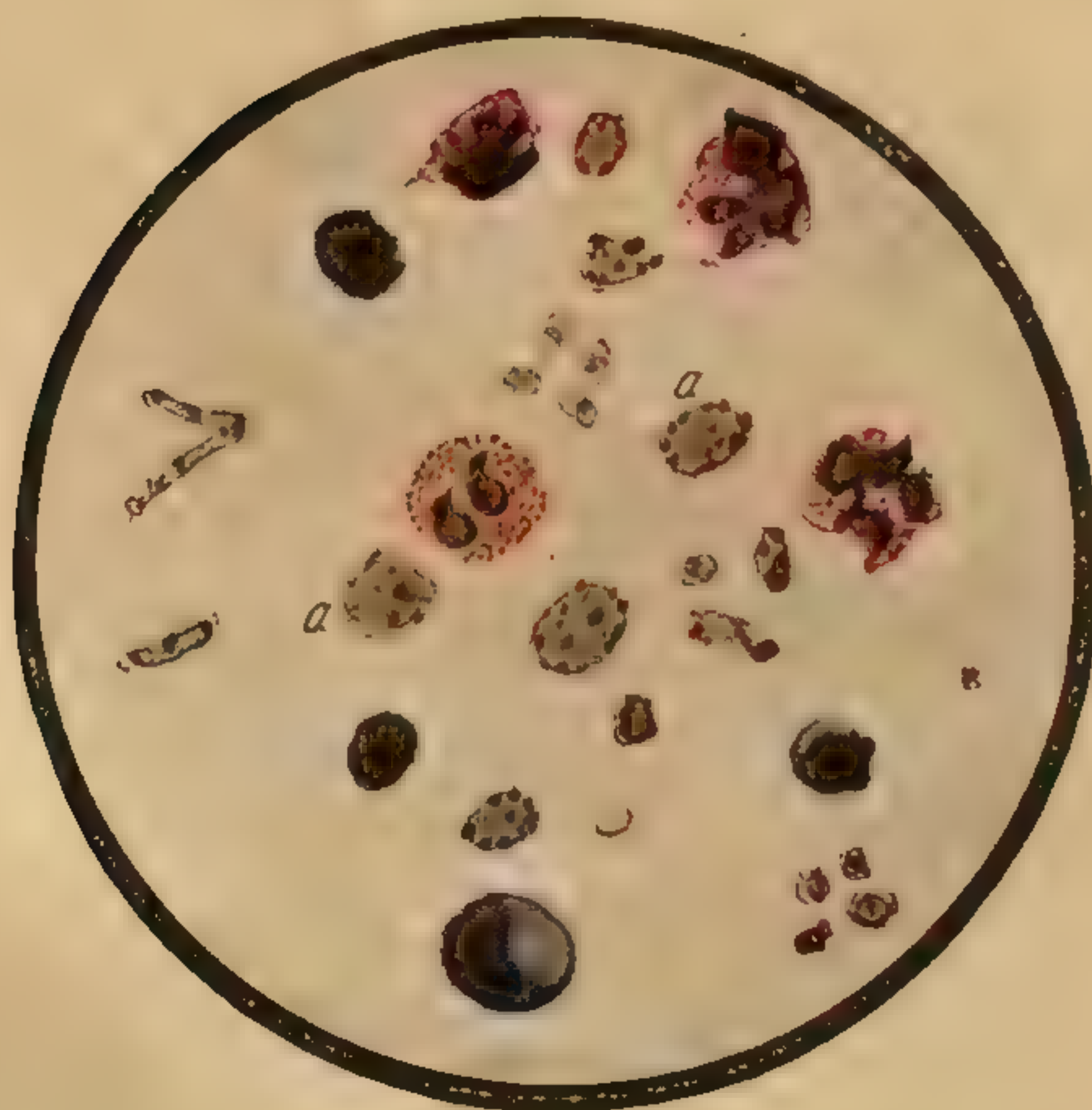


Рис. 25. Полихроматофилия и базофильная зернистость в толстой капле.  
 а — сеточка — остатки полихроматофилии эритроцитов.



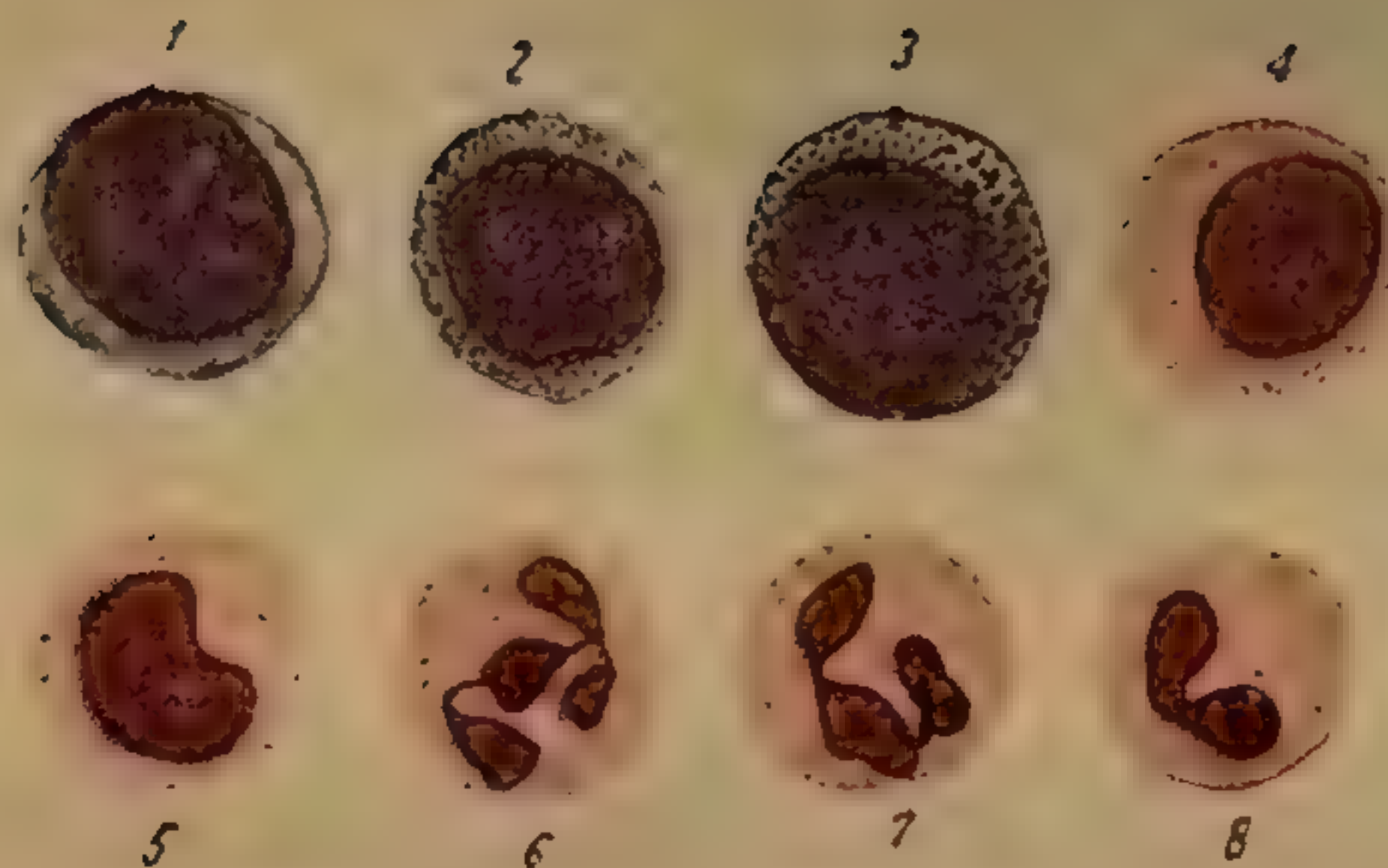


Рис. 26.

1 — миэлобласты; 2, 3 — промиэлоциты; 4 — миэлоцит нейтрофильный; 5 — метамиэлоцит; 6, 7 — сегметированные нейтрофилы; 8 — палочкоядерный нейтрофил.

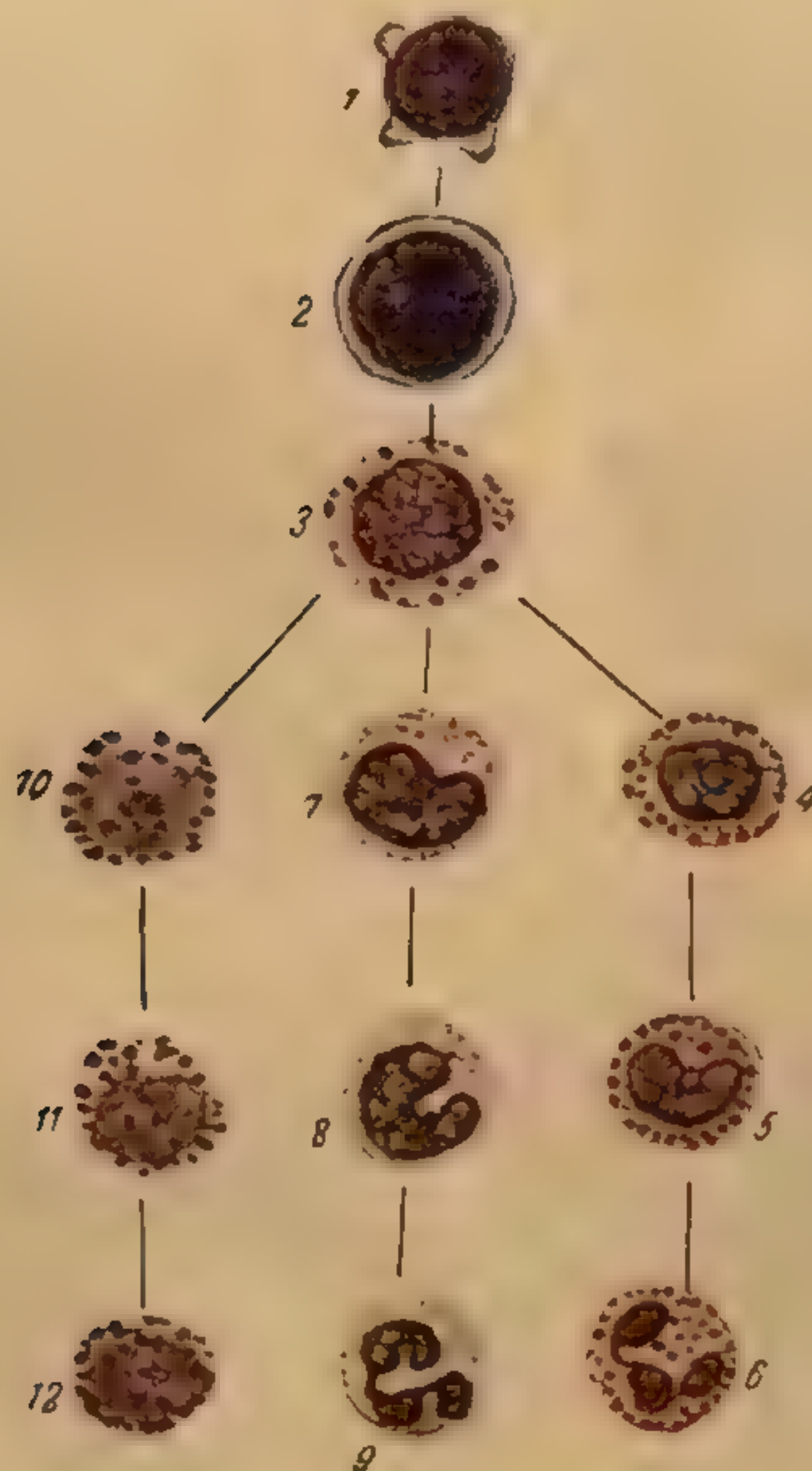


Рис. 27. Постепенное созревание миэлобласта (1 и 2). Через стадию промиэлоцита (3), миэлоцита (4, 7 и 10), метамиэлоцита (5, 8 и 11) до сегментоядерных форм (6, 9, 12).



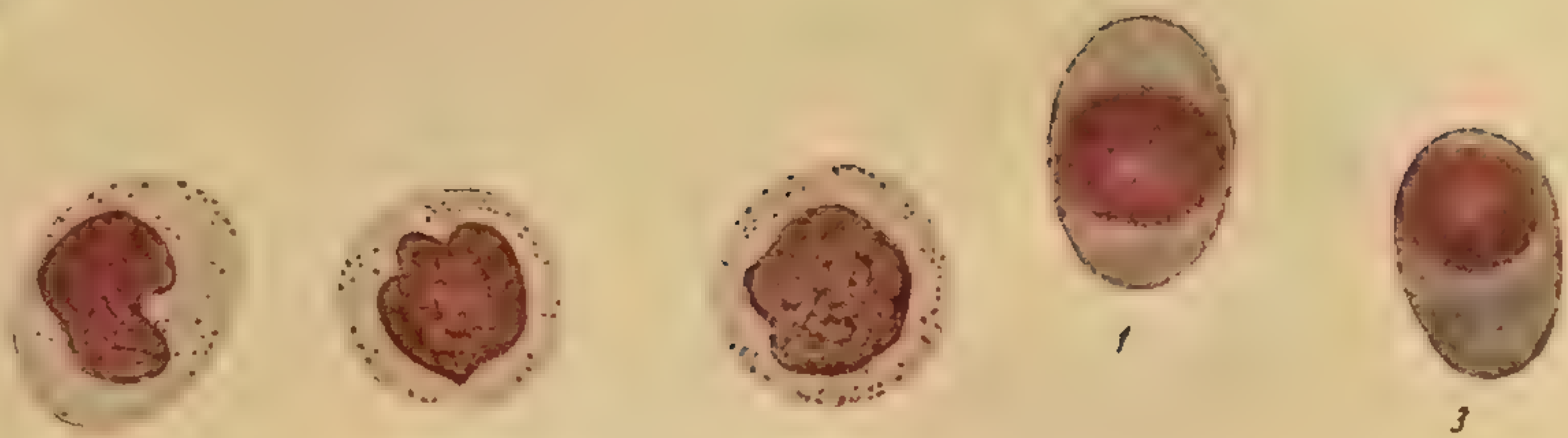


Рис. 29. Различные формы моноцитов.

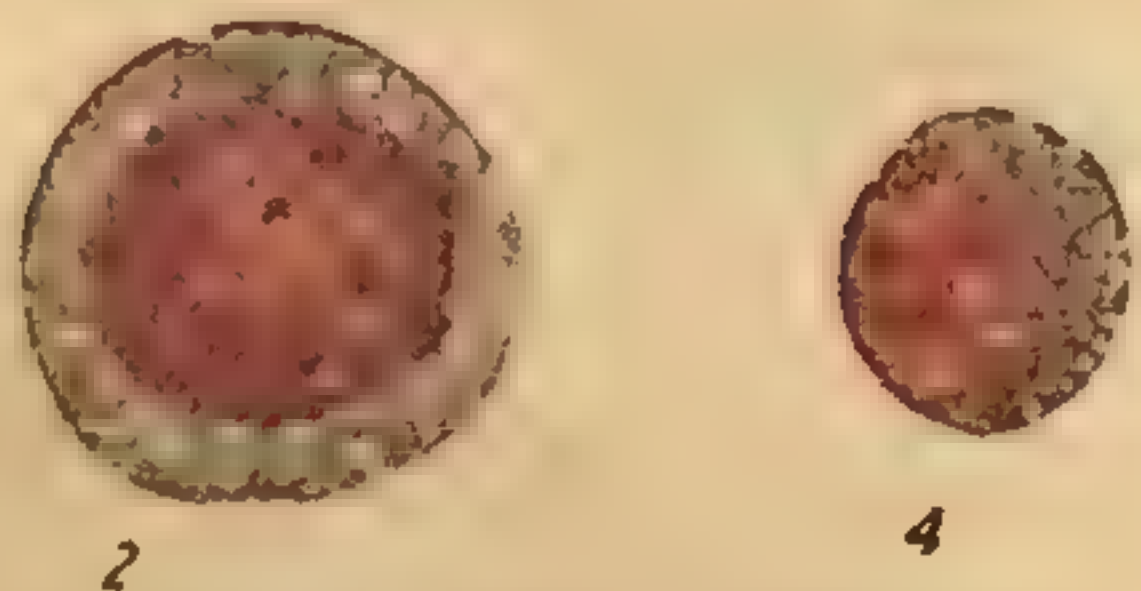


Рис. 31. Различные формы плазматических клеток.

1 — 3 — без нуклеол в ядре и вакуолей в протоплазме; 2 — 4 — с нуклеолами в ядре и вакуолями в протоплазме.

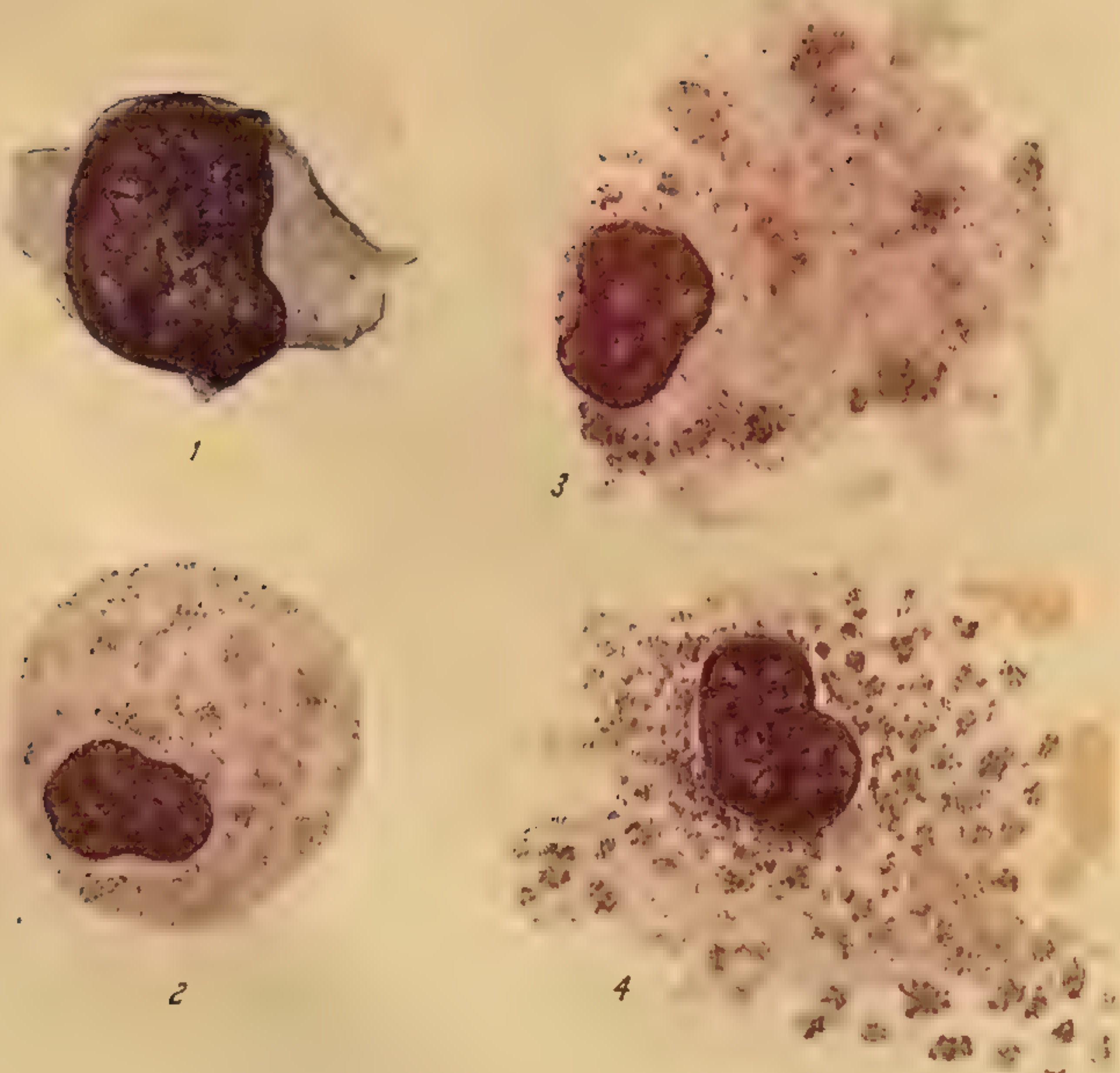


Рис. 32. Образование кровяных пластинок (тромбоцитов).

1 — мегакариобласт; 2 — мегакариоцит без отшнурования кровяных пластинок; 3 — мегакариоцит в стадии образования кровяных пластинок из их протоплазмы; 4 — мегакариоцит в стадии отшнурования пластинок.



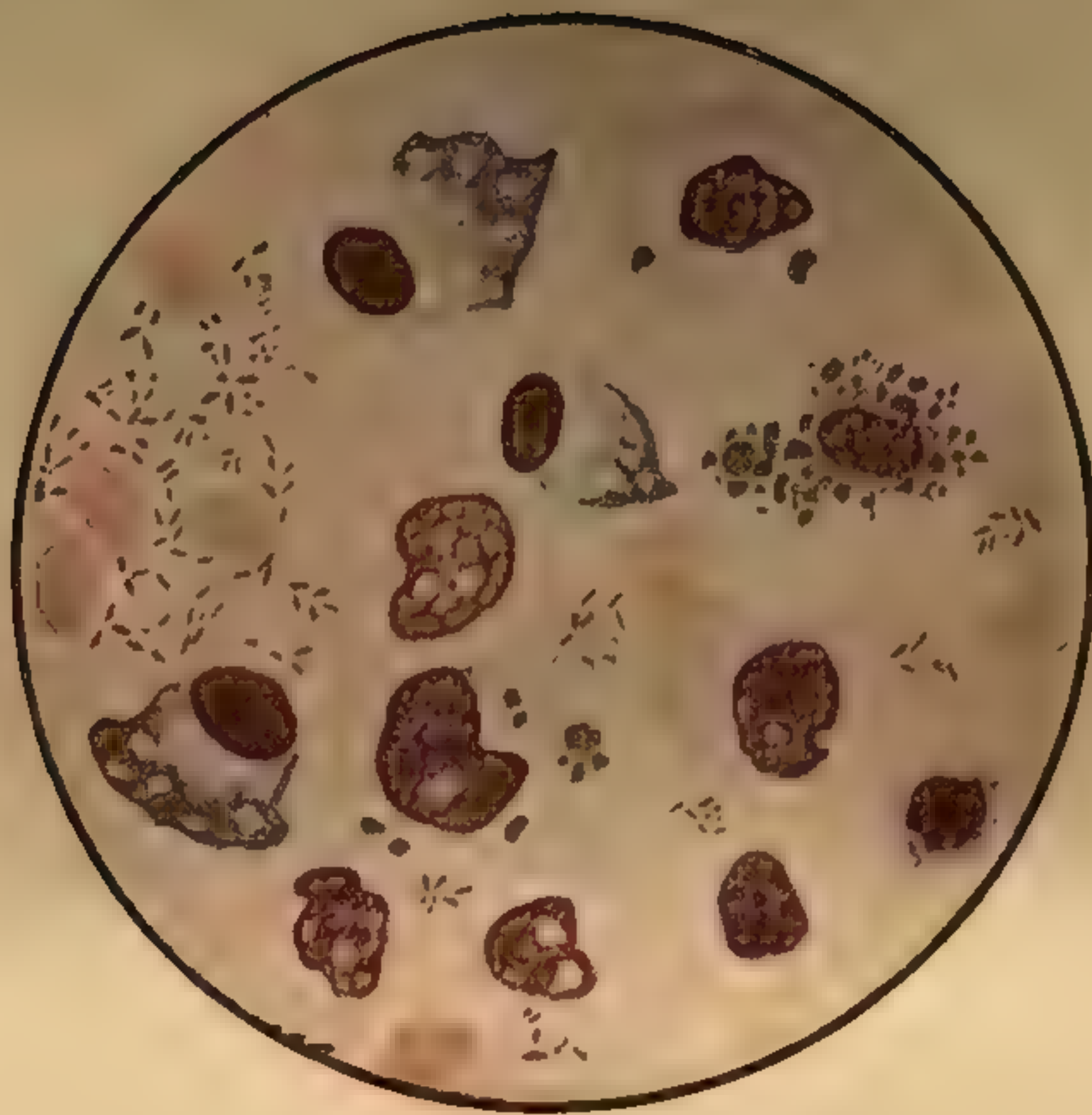


Рис. 34. Костный мозг с плазматическими, лимфоидными клетками, макрофагами и большим количеством микробов при панмиелофтизисе.

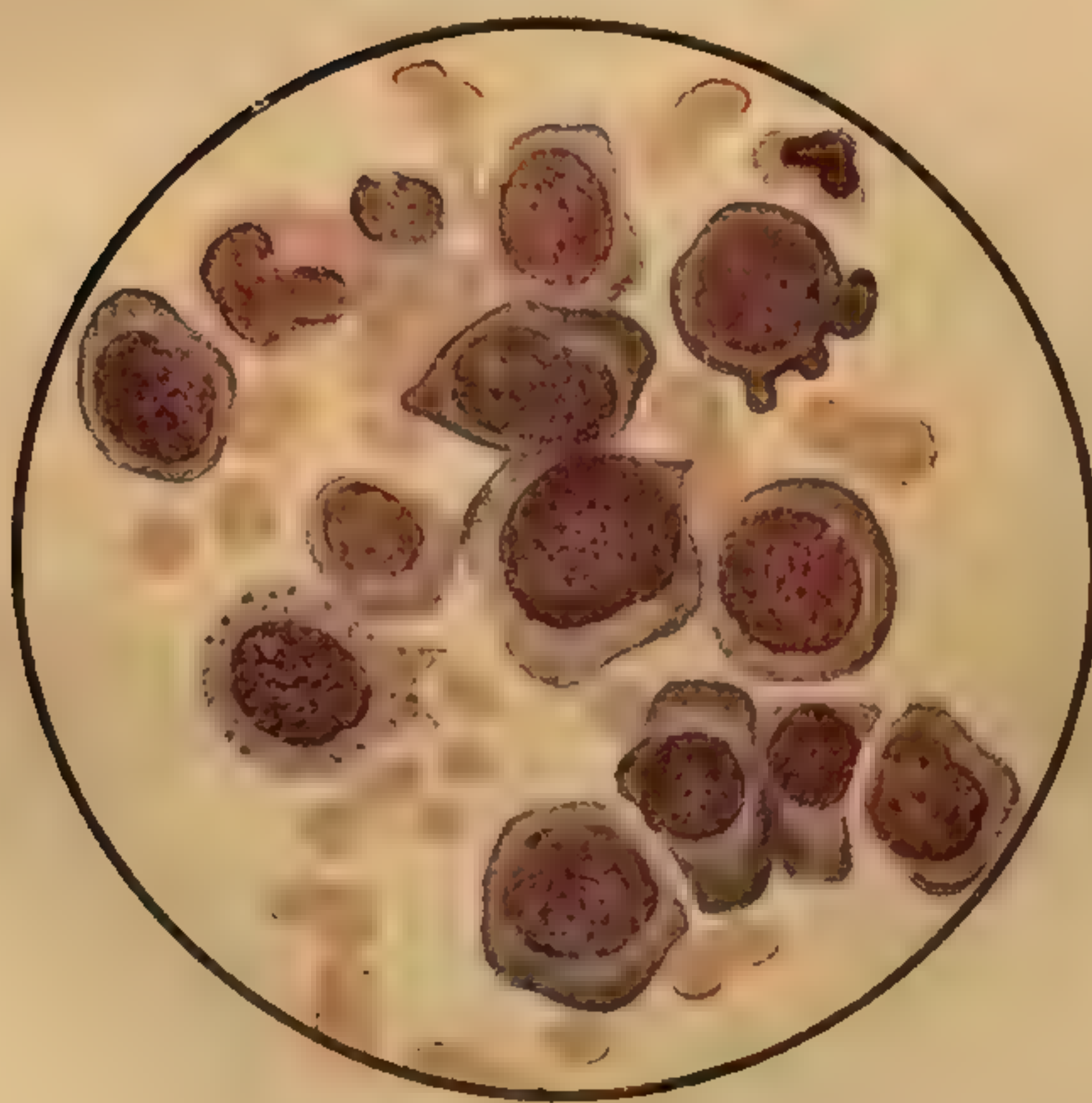


Рис. 35. Костный мозг при пернициозной анемии. Большое количество базофильных и полихроматофильных мегалобластов.



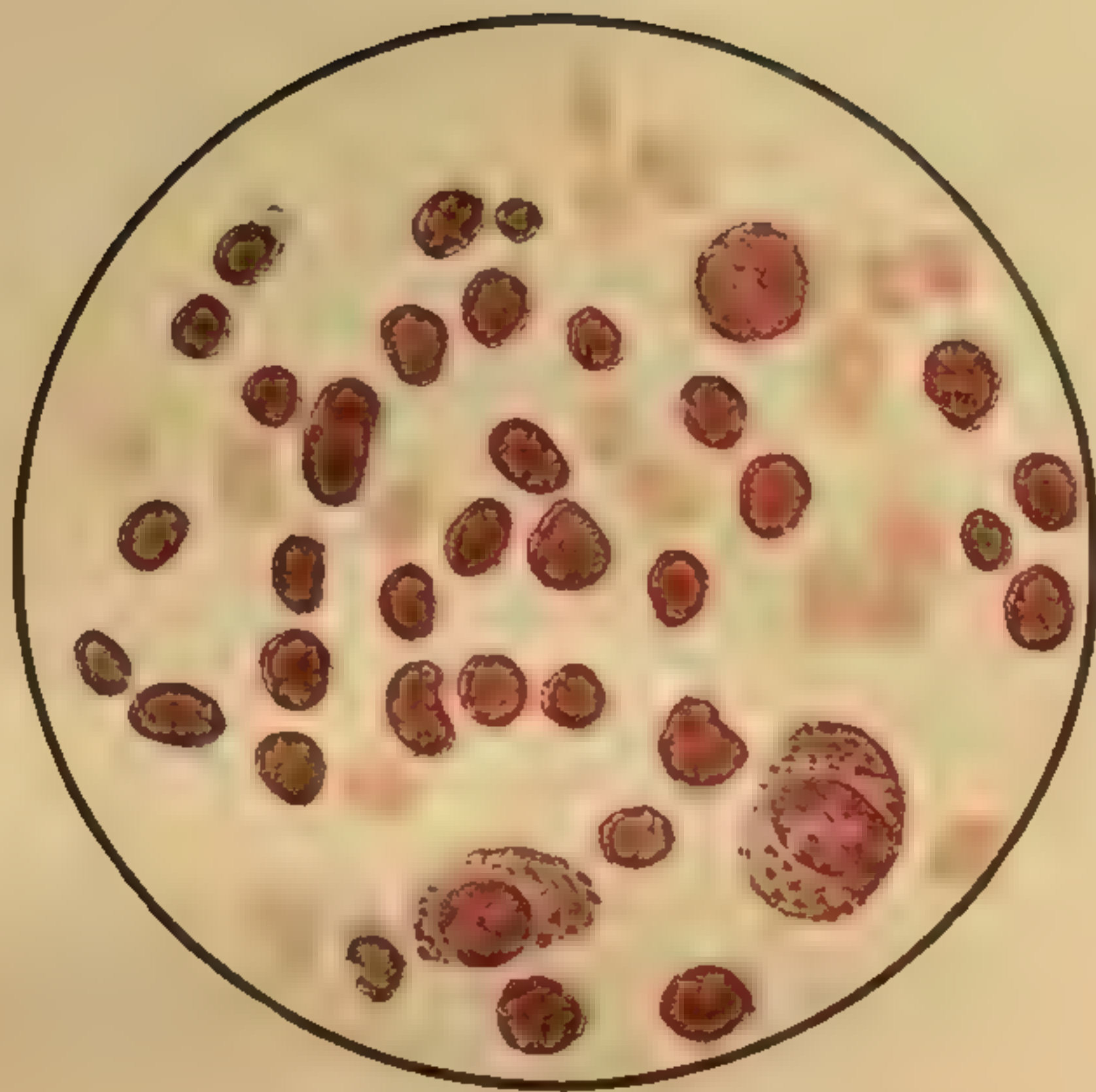


Рис. 38. Периферическая кровь при хронической лимфатической лейкемии.

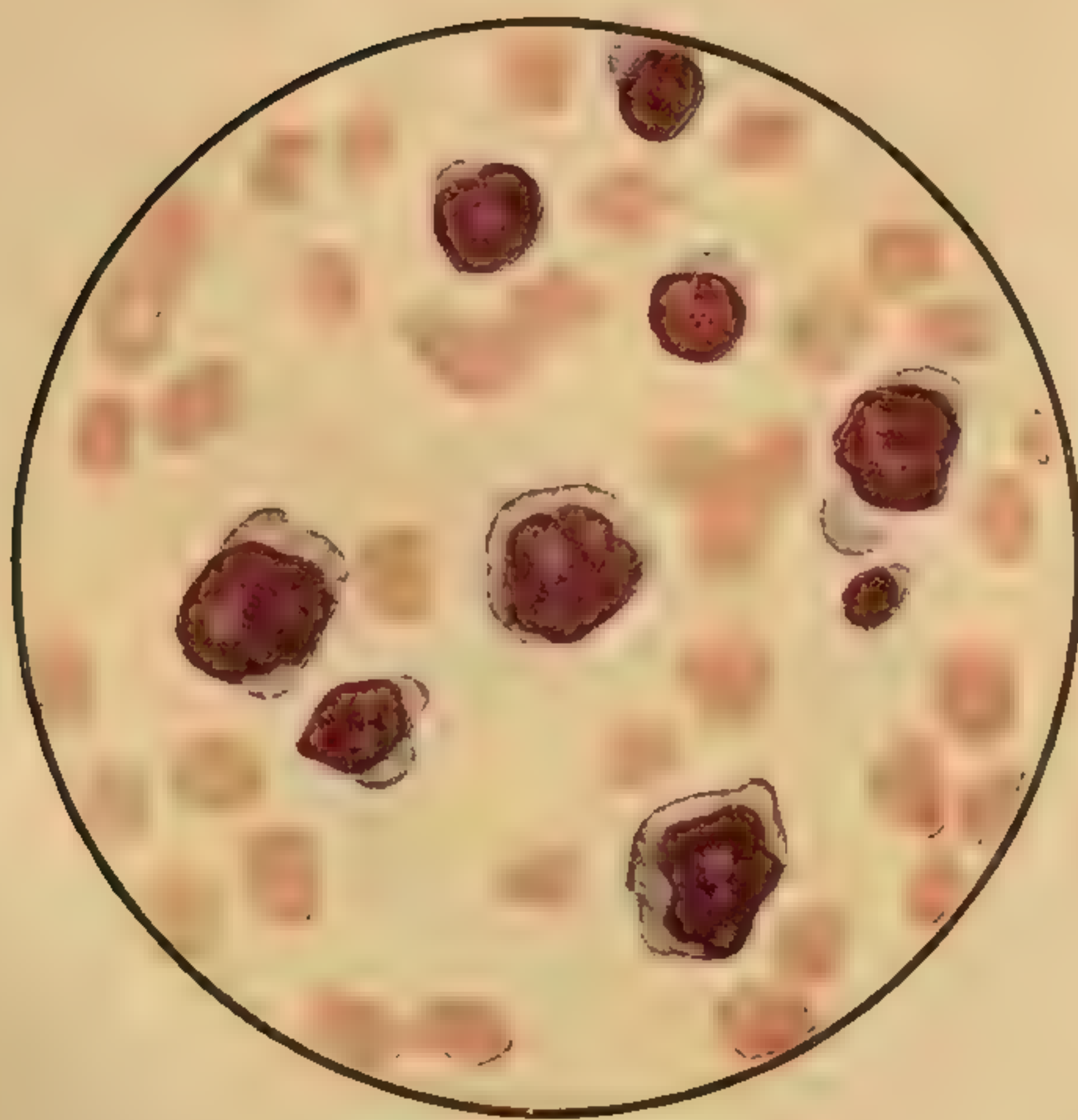


Рис. 39. Периферическая кровь при остром лейкозе (миэлобласты).

гл  
хро  
  
окр  
бел  
си  
  
взр  
бли  
  
ная  
окр  
упл  
бани  
вен  
сост  
вдав  
ную  
неск  
Г  
свой  
в е л  
сравн  
цитоз  
макро  
мегал  
(рис.  
теноо  
при в  
микро  
„Гемо  
ются  
инфек  
легких  
Резко  
ственн  
Мегал  
не дак  
ляются  
Мегало  
врежде  
лоблас  
так на  
О  
Эритро  
только  
нормал  
дается  
количес  
после к  
ная гип  
внимани  
терно д  
если из  
3 Руковод



глобина и числом красных кровяных клеток или же гипо-, реже гиперхромия (см. ниже).

Окрашенным мазком пользуются для изучения величины, формы, окраски и структуры эритроцитов и для детального ознакомления с белой кровью. Изучение мазка производится с масляной иммерсионной системой.

1) **Красная кровь.** Нормальное количество эритроцитов у взрослого человека колеблется от 4 500 000 до 5 000 000; у женщин оно ближе к нижней, у мужчин — к верхней границе этой нормы.

Эритроцит нормальной крови человека (рис. 20) — безъядерная клетка, окрашивающаяся кислыми красками; следовательно, при окраске азур-эозиновой смесью она имеет розовый цвет. Форма несколько уплощенного круга; диаметр в среднем около 8 микрон; небольшие колебания размера возможны и в нормальной крови. Диаметр эритроцитов венозной крови больше, чем артериальной; при некоторых патологических состояниях отмечается обратное соотношение. В центре эритроцита имеется вдавление, вследствие которого эритроцит может иметь бисквитообразную форму. Соответственно этому участку окраска эритроцита в центре несколько бледнее.

При патологических условиях могут изменяться все перечисленные свойства эритроцитов. При малокровиях различного типа изменяется их величина: на мазке одновременно появляются клетки как большего по сравнению с нормальным эритроцитом, так и меньшего размера — анизоцитоз; отмечают как наличие анизоцитоза, так и преобладающий размер — макроцитоз (рис. 21), микроцитоз. Отдельно отмечают гигантские клетки — мегалоциты. Одновременно с анизоцитозом появляется и пойкилоцитоз (рис. 22) — изменяется форма эритроцитов, причем они становятся веретенообразными, грушевидными и т. п. Анизо- и пойкилоцитоз встречается при всех видах анемий, усиливаясь по мере их тяжести. Выраженный микроцитоз наблюдается при гемолитической желтухе (см. стр. 47 „Гемолитическая желтуха“). Более слабые степени микроцитоза отмечают при малокровии после тяжелого кровотечения, нефритическом, постинфекционном, раковом и др. Незначительный макроцитоз имеется при легких формах постгеморрагических анемий с хорошей регенерацией. Резко выраженный макроцитоз характерен для так называемого злокачественного малокровия; мегалоциты встречаются только при этой болезни. Мегалобласты, созревая, превращаются только в мегалоциты, но никогда не дают нормоцитов, т. е. эритроцитов нормальной величины; последние являются результатом созревания макробластов или нормобластов (рис. 23). Мегалобласты и мегалоциты появляются в результате перехода тяжело поврежденного костного мозга от нормального типа кроветворения к мегалобластическому, эмбриональному. Этот переход встречается только при так называемом злокачественном малокровии (рис. 24).

Окраска эритроцитов может претерпевать различные изменения. Эритроциты могут окрашиваться неравномерно, так что окрашивается только краевая зона в виде кольца; возможны все степени перехода нормально равномерной окраски до этого вида. Это изменение наблюдается в тех случаях, когда количество гемоглобина понижено резче, чем количество эритроцитов, т. е. при гипохромных анемиях (тяжелые анемии после кровотечения, постинфекционные, нефритические, раковые, первичная гипохромная и т. п.). В других случаях, наоборот, обращает на себя внимание особенно интенсивная, сочная окраска эритроцитов, что характерно для злокачественного малокровия. Изучение мазка, таким образом, если известно количество гемоглобина, может грубо ориентировать отно-



сительно количества эритроцитов. Окраска эритроцитов может изменяться еще и в другом направлении: отдельные клетки окрашиваются не в чисто розовый цвет, а отличаются своеобразным синеватым оттенком — полихромазия, или полихроматофилия. Это изменение окраски указывает на неполную зрелость эритроцитов; появление подобных молодых клеток встречается при всяком выраженном малокровии и обычно сопровождается резко выраженный пойкилоцитоз. Полихроматофилия, или, вернее, остатки ее, хорошо выявляется в толстой капле после выщелачивания из эритроцитов кислых субстанций. Протоплазма зрелых эритроцитов выщелачивается целиком. От более молодых эритроцитов остается базофильная сеточка (рис. 25).

Нередко бывает, что эритроцит как бы покрыт мелкими зернышками — базофильной зернистостью. Далее, безъядерная в норме клетка может содержать ядро или остатки ядра; появляются нормобласты, макробласты и микробласты при анемиях различного происхождения и, кроме того, мегалобласты — при злокачественном малокровии. Появление ядерных форм у взрослого всегда наблюдается только при тяжелых формах малокровия; у детей они появляются легче, чем у взрослых. Появление ядерных клеток не является признаком нормальной регенерации, скорее их можно рассматривать как симптом патологической регенерации. Остатки ядра могут иметь форму кольца, петли, восьмерки и т. п. (так называемые кольца Кебота) или же точек, обычно мелких, реже более крупных, чаще не больше одной в эритроците — тельца Жолли. Подобные остатки ядра могут наблюдаться при всех тяжелых формах анемии, но чаще при злокачественном малокровии. Тельца Жолли в большом количестве встречаются после спленэктомии.

О диагностическом значении ретикулоцитов, а также базофильной зернистости эритроцитов основные сведения даны при изложении техники окраски.

Просматривают также, нет ли в эритроцитах малярийных плазмодиев; их иногда удается найти и неожиданно, т. е. без соответствующих клинических симптомов.

2) **Белая кровь.** Среднее количество лейкоцитов у взрослого человека колеблется от 5 000 до 8 000. У детей количество лейкоцитов несколько больше, у новорожденных нередко находят 15 000—20 000. На количество лейкоцитов действуют многочисленные и очень разнообразные моменты, в том числе все моменты, изменяющие состояние сосудов: в расширенных сосудах с замедленным течением крови наблюдается пристеночное скопление лейкоцитов за счет лейкоцитов в областях с суженными сосудами. Таким образом, увеличение количества лейкоцитов в периферической крови часто является результатом перераспределения их в кровяном русле. Такой лейкоцитоз, само собой разумеется, не имеет ничего общего с усилением кроветворной деятельности костного мозга или других органов кроветворения, поэтому колебания одного только количества лейкоцитов в указанных пределах и даже несколько шире сами по себе еще не дают определенных диагностических указаний. Учитывать следует только резко выраженные и стойкие отклонения от средней нормы.

Увеличение количества лейкоцитов наблюдается при острых воспалительных и инфекционных процессах; из инфекционных болезней исключение составляют брюшной тиф, грипп, некоторые стадии сыпного тифа, кори. Наиболее резкий лейкоцитоз наблюдается при сепсисе — до 70 000—80 000; при коклюше описан лейкоцитоз до 60 000; при пневмонии и менингите — до 25 000—35 000. Лейкоцитозом сопровождаются также

некто  
парок  
чено  
ошиб  
с лей  
ние к  
тозом  
бере  
лейко  
сколь  
3—4 д  
О  
вило,  
шей с  
протек  
искать  
От  
коцит  
следов  
чают о  
соотно  
циты,  
фильн  
встреча  
отдель  
чительно  
бания в  
протопл  
они бо  
Деле).  
окраске  
внимани  
в перио  
вания.  
3)  
мулы м  
скопу.  
вполне  
лично, н  
крови р  
мерно: б  
перифер  
фоциты)  
между н  
нимых м  
методи  
ней тре  
распрост  
в начале  
линии, 3  
затем сч  
к середи  
ния и т.  
50 клето



некоторые расстройства кровообращения. Например, во время приступа пароксизмальной тахикардии число лейкоцитов может быть резко увеличено (до 20 000); об этом, конечно, важно помнить, чтобы не поставить ошибочного диагноза воспалительного или инфекционного процесса. Далее, с лейкоцитозом протекают разного рода кровотечения, причем внутренние кровотечения сопровождаются особенно резко выраженным лейкоцитозом. Так, например, кровоизлияние в брюшную полость (внематочная беременность, разрыв селезенки) может вызвать увеличение количества лейкоцитов до 20 000 и даже больше; максимум достигается через несколько (8—10) часов; возвращение к исходному количеству — через 3—4 дня (дальнейшие сведения см. ниже).

Отсутствие лейкоцитоза при заболеваниях, протекающих, как правило, с лейкоцитозом, обычно является плохим признаком; в еще большей степени это относится к лейкопении. При заболеваниях, обычно протекающих без лейкоцитоза, наличие такового должно побудить либо искать осложнения, либо пересмотреть диагноз.

От лейкоцитозов отличают лейкомии, при которых количество лейкоцитов может доходить до нескольких сот тысяч. Как правило, при исследовании белой крови не ограничиваются счислением в камере, а изучают окрашенный мазок, чтобы установить лейкоцитарную формулу, т. е. соотношение между отдельными видами лейкоцитов. Различают гранулоциты, к которым принадлежат нейтрофильные, эозинофильные и базофильные лейкоциты, далее, лимфоциты и моноциты; значительно реже встречаются плазматические клетки. Различают, далее, еще более детально отдельные формы нейтрофилов: палочкоядерные, сегментоядерные и значительно реже юные. Отмечают, просматривая весь мазок, резкие колебания величины отдельных нейтрофилов. Внимательно изучают окраску протоплазмы нейтрофилов и характер их зернистости: не содержат ли они более крупной комковатости или даже отдельных глыбок (тельца Деле). В положительном случае необходимо прибегнуть к специальной окраске (см. выше). Весьма редко встречаются и поэтому особого внимания заслуживают те виды клеток, самое выхождение которых в периферическую кровь уже является признаком тяжелого заболевания.

3) **Техника подсчета лейкоцитарной формулы.** Для подсчета формулы многие пользуются крестообразным подвижным столиком к микроскопу. Однако подсчет формулы без этого приспособления также дает вполне удовлетворительные результаты. Нужно помнить, что не безразлично, на какой части мазка считать формулу, так как при размазывании крови различные виды лейкоцитов распределяются по стеклу неравномерно: более крупные формы (моноциты, нейтрофилы) располагаются по периферии (вдоль верхнего и нижнего края мазка), а более легкие (лимфоциты) преобладают в центре; неполная равномерность имеется также между началом, серединой и концом мазка, поэтому для получения сравнимых между собой формул необходимо соблюдать всегда одну и ту же методику. Рекомендуют, например, считать в первой, средней и последней трети мазка сверху вниз и обратно по 4—6 полос. В СССР очень распространен следующий способ: по верхнему и нижнему краю мазка, в начале и в конце его, считают, передвигая мазок по зигзагообразной линии, 3 поля зрения по самому краю в горизонтальном направлении, затем считают несколько полей зрения, передвигаясь по направлению к середине мазка, вновь направляются к краю, сосчитывают 3 поля зрения и т. д. (рис. 15). В каждом из этих четырех участков насчитывают 50 клеток. Регистрируют без исключения каждую попадающуюся клетку.



Какой из этих методов лучше или хуже, сказать трудно, так как вообще весь подсчет лейкоцитарной формулы представляет собой только ориентировочный способ, не могущий претендовать на какую-либо абсолютную точность. Важно только для получения сравнимых между собой данных, чтобы методика подсчета каждый раз применялась одна и та же и чтобы лаборант работал по тому способу, к которому он наиболее привык.

При подсчете помечают на бумаге сверху вниз всегда в одном и том же порядке отдельные формы (сегментированные, палочкоядерные, лимфоциты, эозинофилы, моноциты, базофилы); находя под микроскопом какую-либо из этих клеток, ставят значок против соответствующего обозначения. Удобно записывать пятками, т. е. ставить три палочки вертикально и перечеркивать их четвертой и пятой; тогда количество сосчитанных форм устанавливается легко и быстро.

Определив процентное соотношение между видами клеток, вычисляют также, в особенности в тех случаях, когда общее число лейкоцитов изменено, их абсолютное количество. Если, например, при 12 000 лейкоцитов имеется 15% лимфоцитов вместо обычных 25—30, то можно говорить только об относительной лимфопении, но не об абсолютном понижении количества лимфоцитов, так как если бы общее количество лейкоцитов не было увеличено за счет других форм, а оставалось около 6 000, то то же количество лимфоцитов составило бы уже 30%; при пониженном количестве лейкоцитов высокий процент лимфоцитов не является признаком какого-либо раздражения лимфатической системы, потому что абсолютное количество их в 1 мм<sup>3</sup> нормально. Если у одного и того же лица два счета лейкоцитов на протяжении нескольких дней дали 6 000 с 30% лимфоцитов и 5 000 с 36% лимфоцитов, то здесь нет никакого нарастания лимфоцитов: и в том, и в другом случае их абсолютное количество равно 1 800.

а) Нейтрофильные лейкоциты. Первым в ряду гранулоцитов стоит миэлобласт — большая клетка с относительно крупным, круглым, мало дифференцированным, бледно окрашивающимся ядром с несколькими ядрышками; протоплазма интенсивно голубая; при окраске азур-эозиновой смесью в ней не обнаруживается зернистости. Миэлобласт (рис. 26) в процессе созревания и дифференциации превращается в промиэлоцит; в голубой протоплазме появляются сначала немногочисленные зерна, в дальнейшем — обильная зернистость, при окраске азур-эозиновой смесью — темновинного цвета; еще позднее ядро теряет ядрышки и становится более компактным и дифференцированным. Эти две формы появляются в периферической крови почти только при тяжелых заболеваниях крови. Следующая по зрелости ступень — миэлоциты. Размер миэлоцита меньше, чем предыдущих форм. Созревание происходит как в ядре, так и в протоплазме. Ядро зрелого миэлоцита еще светлое, круглое, относительно большое, но уже начинает ясно дифференцироваться оксихроматин. Протоплазма теряет свой голубой цвет; зернистость становится мельче и приобретает свойство избирательно относиться к краскам: одни из миэлоцитов окрашиваются кислыми красками, другие — основными, и, наконец, большинство не имеет такого выраженного сродства. Различают, таким образом, эозинофильные, базофильные и нейтрофильные миэлоциты.

Дальнейшее созревание легче проследить на ядре. Ядро миэлоцита становится более компактным и получает с одной стороны вдавление; форма его вследствие этого становится почковидной; в этой стадии созревания клетки носят название метамиэлоцитов. В дальнейшем ядро становится еще более узким, колбасовидным, напоминая по рисунку



ядро метамиелоцита. Это молодая палочкоядерная форма, которая либо может созреть, не изменяя очертания ядра, становящегося только при окраске более темным, гиперхроматичным, бесструктурным (дегенеративные палочкоядерные формы), либо созревание сопровождается сегментированием ядра с образованием 2, 3 и больше сегментов, разделенных между собой тонкими мостиками; последние часто разрываются, так что клетка производит впечатление многоядерной. Нормальный нейтрофил при окраске азур-эозиновой смесью имеет бесцветную или слегка розоватую протоплазму с мелкой, равномерно распределенной зернистостью красновато-фиолетового цвета. Средняя величина 9—12  $\mu$ . Нейтрофильные лейкоциты периферической крови образуются в костном мозгу в результате процесса постепенного созревания миелобласта (рис. 27).

Нейтрофильные миелоциты появляются в периферической крови только при сильно повышенной регенерации; метамиелоциты (юные) тоже являются признаком повышенной регенерации, но все же встречаются уже относительно часто, например, в количестве нескольких процентов при крупозной пневмонии. В нормальной крови они либо не встречаются вовсе, либо встречаются в количестве не более 0,5%. Палочкоядерные формы встречаются в нормальной крови в количестве 1—4%; число их резко увеличивается при разнообразных инфекционных заболеваниях и воспалительных процессах, например, при аппендиците; при этом можно различать молодые палочкоядерные и дегенеративные клетки. Сегментоядерные нейтрофилы составляют главную массу лейкоцитов. Количество их колеблется у здоровых от 50 до 65% и больше, т. е. 4 000—6 000 клеток в 1 мм<sup>3</sup>, но при патологических условиях может достигать до 80% и больше или падать до 1%.

Лейкоцитоз в большинстве случаев происходит за счет нейтрофилов. Лейкоцитоз не только служит очень чувствительным признаком наличия воспалительного процесса, но и отражает особенности его течения. По мере развития воспалительного процесса лейкоцитоз увеличивается; по мере затихания процесса уменьшается общее количество лейкоцитов, а также число нейтрофилов и увеличивается относительное количество лимфоцитов и почти всегда эозинофилов. Без повторного изучения картины белой крови (гемограммы) воспалительный процесс не всегда может быть правильно оценен.

В значительном большинстве случаев нейтрофильного лейкоцитоза увеличивается количество палочкоядерных форм и юных клеток. Этот левый сдвиг нейтрофилов наблюдается при разнообразных патологических состояниях и, следовательно, лишен какой бы то ни было специфичности. Можно сказать только, что левый сдвиг не встречается у вполне здоровых людей (если оставить в стороне исключительно редко наблюдающуюся семейную аномалию, выражающуюся в резком сдвиге влево нейтрофилов и эозинофилов при нормальном или пониженном количестве лейкоцитов). В то же время отсутствие сдвига не исключает наличия тяжелого заболевания; пропорциональности между тяжестью заболевания и величиной сдвига тоже нет, поскольку речь идет о различных людях и различных заболеваниях. Однако, что весьма ценно, у одного и того же лица на протяжении какого-либо заболевания нарастание сдвига влево обычно идет параллельно ухудшению процесса.

Величина левого сдвига может быть охарактеризована ядерным показателем — соотношением между количеством сегментированных и суммой всех несегментированных форм. Это соотношение может быть вычислено делением суммы всех несегментированных форм на сегментированные, т. е.



показатель получается в виде десятичной дроби; например, при наличии 4% палочкоядерных нейтрофилов и 63% сегментированных индекс сдвига будет равен  $4:63=0,06$ . При делении количества сегментированных на сумму всех несегментированных форм получается ядерный показатель в целых числах ( $64:4=16$ ). Нормальный показатель сдвига будет колебаться от 0,06 до 0,08, и от 15 до 17. Ядерный сдвиг от 10 до 15 или от 0,08 до 0,15 обозначается как слабый левый сдвиг, сдвиг влево от 5 до 10 или от 0,15 до 0,3 — как средний левый сдвиг и ниже 5 и выше 0,45 — как резко выраженный левый сдвиг. Показатель сдвига больше 17 и меньше 0,05 называется ядерным сдвигом вправо. Он наблюдается при уменьшении палочкоядерных или увеличении сегментированных нейтрофилов. Клетки с большим количеством (5—7) сегментов называются гиперсегментированными формами. Клиническое значение правого сдвига недостаточно выяснено. Правый сдвиг часто наблюдается при злокачественном малокровии. Нередко при этом имеет место лейкопения.

Схематическую оценку значения левого сдвига можно формулировать следующим образом. Гемограммы с умеренным лейкоцитозом и регенерацией обычно говорят о благоприятном течении процесса. Резкое нарастание лейкоцитоза или левого сдвига означает либо нарастание токсемии, либо увеличение сопротивления со стороны организма и должно истолковываться с большой осторожностью. Нарастание левого сдвига без увеличения количества лейкоцитов обычно является неблагоприятным признаком; такое же значение имеет очень усиленная регенерация и атипическая картина крови. Падение количества эозинофилов при нарастающем лейкоцитозе может считаться указанием на обострение процесса; полное исчезновение эозинофилов с заметным уменьшением числа лимфоцитов является неблагоприятным признаком. Наоборот, наличие эозинофилов при лейкоцитозе во время острого процесса рассматривается как благоприятный симптом; в еще большей степени это относится к увеличению числа эозинофилов при уменьшающемся общем количестве лейкоцитов и левом сдвиге.

Наряду с перечисленными изменениями формы ядра, имеют большое значение также тонкие изменения в строении ядра и протоплазмы: комковатость, неравномерное окрашивание и пикноз ядра, синеватая окраска протоплазмы вместо нормальной ортохроматической, погрубение зернистости, появление глыбок и т. п. являются несомненными признаками воспалительного или токсического процесса.

Помимо описанных изменений, нейтрофильные лейкоциты испытывают и изменения величины. В процессе созревания от миэлобласта до нейтрофильного лейкоцита нормальной крови величина клетки постепенно уменьшается. При расстройствах кроветворения на протяжении острых или хронических инфекционных заболеваний в периферической крови встречаются гигантские нейтрофилы, размер которых в  $1\frac{1}{2}$  — 2 раза превосходит обычный; увеличение идет за счет как протоплазмы, так и ядерного вещества. Значительно реже встречаются микронейтрофилы.

Лейкопении тоже чаще происходят за счет сегментированных нейтрофилов. Они могут сопровождаться левым сдвигом. Крайне резкую нейтропению называют гранулоцитозом.

б) Эозинофильные лейкоциты образуются так же, как нейтрофилы, из миэлобластов (рис. 26). Размер их несколько больше нейтрофильного лейкоцита (12—15  $\mu$ ). Наиболее характерным признаком эозинофила является зернистость протоплазмы: отдельные грубые, крупные, круглые или слегка вытянутые зерна, в неокрашенном виде блестящие,



желтоватые, при окраске азур-эозиновой смесью — яркокрасные. Очень редко среди этих зерен появляются мелкие базофильные зернышки — в дегенеративных мелких эозинофилах с пикнотическим ядром и просвечивающей слегка базофильной протоплазмой. Ядро сегментировано, но в огромном большинстве случаев состоит только из двух грушевидных сегментов почти одинаковой величины, соединенных между собой тонким мостиком. Эта форма ядра настолько характерна, что позволяет сама по себе распознать клетку. При резко выраженной эозинофилии и, как правило, при миэлогенных лейкозах встречаются и незрелые эозинофилы — эозинофильные миелоциты, юные и палочкоядерные эозинофилы. Количество эозинофилов может дать ценные диагностические указания при ряде заболеваний. В нормальной крови оно колеблется от 1 до 4% (75—300 эозинофилов в 1 мм<sup>3</sup> крови); у детей в грудном возрасте 6 и даже 8% эозинофилов еще не означает патологической эозинофилии.

Наиболее часто встречающаяся в практической работе причина эозинофилии — инвазия животными паразитами (эхинококк, трихины, различные кишечные глисты); стойкая эозинофилия всегда должна побудить настойчиво искать присутствия паразитов. Отрицательный результат — отсутствие эозинофилии — при подозрении на инвазию, например, эхинококком, значительно менее убедителен. Далее, повышенное содержание эозинофилов наблюдается при аллергических состояниях: лекарственных и пищевых идиосинক্রазиях, бронхиальной астме в период приступа, крапивнице, сенной лихорадке и т.п., а также при ряде кожных болезней:

пемфигусе, герпетиформном дерматите и др. При пернициозной анемии эозинофилия нередко наблюдается во время ремиссии, особенно вызванной печеночной терапией. Далее, эозинофилия встречается при некоторых формах туберкулеза. Из инфекционных болезней с эозинофилией протекает скарлатина (начиная со 2—3-го дня после высыпания), а также холера; вообще же острые инфекционные болезни, в особенности кокковые, сопровождаются понижением количества эозинофилов; если при предполагаемой кокковой инфекции имеется нейтрофильный лейкоцитоз с нормальным или повышенным количеством эозинофилов, то либо диагноз нуждается в пересмотре, либо инфекция уже преодолена (см. ниже). В частности, при остром сепсисе эозинофилов очень мало или нет вовсе; значительно реже сепсис протекает с нормальным количеством эозинофилов. Малое количество или полное отсутствие (см. ниже) эозинофилов характерно также для брюшного тифа. В то же время начало периода реконвалесценции сопровождается для многих инфекций нарастанием количества



Рис. 28. Лимфоциты.

1 — лимфобласт, 2, 5 — широкопротоплазменный лимфоцит с азурофильной зернистостью, 3, 6 — средний лимфоцит, 4, 7 — малые лимфоциты, 8, 9 и 10 — атипичные лимфоциты.



эозинофилов; при брюшном тифе эозинофилы появляются на третьей неделе.

При миэлогенной лейкемии число эозинофилов увеличено относительно и абсолютно; встречаются эозинофильные миэлоциты и метамиэлоциты.

Полное отсутствие эозинофилов — анэозинофилию — нельзя диагностировать на основании только подсчета нескольких сот клеток для лейкоцитарной формулы или даже просмотра всего мазка; необходимо изучение толстой капли (см. „Окраска малярийных паразитов“).

в) Базофильные лейкоциты образуются, так же как нейтрофилы, из миэлобластов. Размер приблизительно такой же, как эозинофильных лейкоцитов. Ядро неопределенной формы, лапчатое. Протоплазма содержит многочисленные крупные зерна, окрашивающиеся в фиолетовый цвет. Зерна легко растворимы и при некоторых видах фиксации исчезают, оставляя крупные прозрачные отверстия, по которым и можно распознать клетку.

Количество их в нормальной крови обычно не превышает 0,5—1 %; при миэлоидной лейкемии количество их повышено; отмечают повышение их также при полицитемии. Диагностическое значение базофильных лейкоцитов не установлено.

г) Лимфоциты (рис. 28). Размер клетки 7—9  $\mu$ , т. е. такой же, как эритроцита. Лимфоциты бывают малые, средние и широкопротоплазменные. Ядро круглое или овальное, при окраске азур-эозиновой смесью сине-фиолетового цвета; иногда оно имеет с одной стороны острое углубление. Протоплазма при окраске азур-эозиновой смесью голубая; в ней нередко имеются различных размеров яркокрасные (азурофильные) зерна. Вокруг ядра обычно остается бесцветный или более бледный ободок. Нередко протоплазма содержит одну или несколько вакуолей. При патологических состояниях в крови появляются патологические лимфоциты: клетки обычно большего размера, неправильной формы, иногда с лопастным ядром, в котором видны ядрышки. Протоплазмы иногда очень мало, иногда, наоборот, она очень широка, содержит вакуоли и образует вокруг ядра светлую зону. Их находят обычно при лимфатической лейкемии, при инфекционных заболеваниях, в частности, краснухе и ангине, особенно в большом количестве при ангине с лимфатической реакцией. Эти клетки легко ранимы, поэтому на мазках крови при лимфатической лейкемии обнаруживается довольно большое количество бесформенных комков ядерного вещества — так называемые клетки Гумпрехта.

При патологических состояниях иногда можно найти также лимфобласты — молодые лимфоциты; они большего размера и напоминают миэлобласты, но ядро их больше и менее равномерного рисунка; протоплазма более базофильна.

У взрослых нормальная кровь содержит лимфоцитов — 25—30 %, т. е. 1500—1800 в 1 мм<sup>3</sup>; однако это число легко колеблется в ту и другую сторону. Кроме того, подсчет их весьма неточен; поэтому нахождению даже 35—40 % нельзя придавать какого-либо значения. У новорожденных лимфоцитов значительно больше: в среднем при 13 000 лейкоцитов — свыше 50 %, т. е. 7 000—8 000 лимфоцитов в 1 мм<sup>3</sup>, у детей до 10 лет — 40—60, реже 70 % при 7 000—9 000 лейкоцитов. Необходимо, далее, чтобы выделить истинные расстройства функции лимфатической системы, отличать относительные лимфопении или лимфоцитозы от абсолютных; так, например, кровь при агранулоцитозе (злокачественной гранулоцитопении) содержит почти только одни лимфоциты; относительное количество их, следовательно, огромно, абсолютное, однако, не увеличено (см. также выше).



Лимфопении, относительные и абсолютные, встречаются в первом периоде инфекционных заболеваний; резкое падение количества лимфоцитов в дальнейшем течении инфекционного заболевания обычно является плохим прогностическим признаком. При милиарном туберкулезе количество лимфоцитов прогрессивно падает. Лимфопения, естественно, развивается также в тех случаях, когда имеется обширное разрушение лимфатической ткани, — при туберкулезе, раке, грануломах, саркомах лимфатических желез; с лимфопенией обычно протекает также хлороз.

Лимфоцитозы, главным образом относительные, наблюдаются при выздоровлении от инфекций и заболеваний, сопровождающихся в разгар



Рис. 30. Моноцитарная система (по О. П. Григоровой). В верхнем ряду — монобласт, промоноцит, моноциты; в нижних рядах — 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 — полиморфомоноциты.

болезни нейтрофилезом. Абсолютный лимфоцитоз наблюдается при коклюше, где имеется также большое количество патологических клеток и общее количество лейкоцитов доходит до 20 000 и больше. Лимфоциты наблюдаются также при туберкулезе с благоприятным течением.

При внутрисекреторных расстройствах, в том числе при базедовой болезни, абсолютный лимфоцитоз встречается редко, относительный же большей частью.

Резкое увеличение количества лимфоцитов (до нескольких сот тысяч) наблюдается при лимфатической лейкемии; при алейкемических лимфаденозах имеется главным образом процентное увеличение количества лимфоцитов.

Лимфатические реакции сопровождают некоторые инфекционные заболевания, протекающие под видом ангины (лимфоцитарная ангина), а иногда и другие инфекции.



д) Моноциты являются особой самостоятельной зрелой клеткой (рис. 29). По размеру это самая крупная клетка периферической крови — от 12 до 20  $\mu$ . Ядро по отношению к протоплазме крупное, неправильно округлой, овальной формы, имеет одно или несколько плоских вдавлений, или глубокий подковообразный вырез, или иногда совершенно неправильные контуры. Никогда, однако, сегментация не заходит настолько далеко, чтобы напоминать сегментированное ядро нейтрофильных лейкоцитов. Своеобразная форма ядра с разнообразными дольками и бухтами наблюдается особенно часто при злокачественном малокровии. Базихроматиновая сетка ядра гораздо тоньше и нежнее у молодых клеток, чем у старых; именно этот признак, а не внешние контуры ядра, должен лечь в основу суждения о возрасте клетки. Окраска ядра светлее, чем у нейтрофильных лейкоцитов и лимфоцитов; протоплазма в отличие от голубой протоплазмы лейкоцитов сероватого цвета; вокруг ядра никогда не остается светлого ободка; в протоплазме содержится несколько вакуолей, расположенных близ ядра; зернистость азурофильная, очень мелкая и обильная, видная только при хорошей окраске.

е) Моноцитарная система по Григоровой<sup>1</sup>. О. Н. Григорова придает большое значение процентному отношению различных видов моноцитов (рис. 30). Она разделяет эти клетки на: 1) монобласт — большая клетка с большим незрелым ядром, 2) промоноцит — клетка с круглым ядром, 3) собственно моноцит — клетка с бобовидным ядром, 4) полиморфомоноцит — клетка с полиморфным ядром. В инфекционных процессах, протекающих с резкой интоксикацией (ревматизм, туберкулез, дифтерия, дизентерия), моноцитограмма изменяется. В норме у взрослого человека на 100 моноцитов приходится 20—28% промоноцитов (в среднем 22%), собственно моноцитов — 26—32% (в среднем 28%), полиморфомоноцитов — 42—52% (в среднем 50%). У детей разных возрастов количество моноцитов несколько больше, чем у взрослых. При хорошей реактивности со стороны активной мезенхимы увеличивается количество промоноцитов с одновременным уменьшением полиморфомоноцитов, что является хорошим прогностическим симптомом. Обратные соотношения, наоборот, прогностически неблагоприятны.

Количество моноцитов в периферической крови 6—8%; увеличение количества моноцитов наблюдается в некоторых случаях совместно с нейтрофильным лейкоцитозом, в других — с лимфоцитозом, иногда самостоятельно. В начале фазы выздоровления после инфекционных болезней моноциты иногда нарастают совершенно закономерно. При взятии крови из ушной мочки в первой капле, выступающей после укола без трения уха, иногда содержится много моноцитов нормального вида, которые не следует смешивать с эндотелиальными клетками. В начале инфекции относительное количество моноцитов большей частью уменьшено.

ж) Эндотелиальные клетки (гистиоциты). Это длинные клетки с отростками и овальным эксцентрически расположенным ядром; часто они сильно вакуолизированы и содержат фагоцитированное включение. Иногда эти клетки обнаруживаются в большом количестве в периферической крови, например, при сепсисе лент, главным образом при взятии крови из мочки уха, особенно в первой капле, выступающей после трения мочки.

з) Клетки раздражения Тюрка. Это большие клетки с интенсивно синей протоплазмой и большим округлым, эксцентрически расположенным темным ядром.

<sup>1</sup> Педиатрия, № 3, стр. 9. 1943.



и) Плазматические клетки (рис. 31). Эти клетки очень похожи на предыдущие. В последнее время многие авторы идентифицируют плазматические клетки и клетки раздражения Тюрка. Их можно обнаружить и у здоровых, если считать около 1 000 форм. Таким образом, появление их в количестве 1—2 на 1 000 лейкоцитов не представляет ничего патологического<sup>1</sup>. В относительно большом количестве они появляются в крови при краснухе — до 17 и даже до 30%; в других случаях той же болезни обнаруживаются лишь единичные экземпляры. Несколько чаще, чем у здоровых, их находят при злокачественном малокровии. Плазматические клетки встречаются при аллергических состояниях вместе с эозинофилией. Эти клетки обнаруживаются в костном мозгу, а иногда и в периферической крови при миеломах.

4) **Тромбоциты.** Тромбоциты, наряду с эритроцитами и лейкоцитами, называют третьим форменным элементом крови. Большинство авторов считает, что они происходят из мегакариоцитов (рис. 32), т. е. образуются в костном мозгу. Морфология их недостаточно изучена. При патологических состояниях отмечают изменения их величины и формы, а также структуры, но относящихся сюда наблюдений недостаточно и все эти данные еще не стали достоянием клиники: последняя до сих пор оперирует главным образом лишь колебанием количества тромбоцитов.

Тромбоциты весьма хрупки и чрезвычайно легко собираются в кучки; прикосновение к стеклу вызывает их повреждение. Поэтому точно сосчитать их количество, как это делается для красных и белых клеток, — задача весьма трудная. Исходя из этого, существует много методов определения количества тромбоцитов. Здесь приводятся наиболее удачные и вошедшие в практику.

а) **Определение количества тромбоцитов (пластинок).** В основе всех методов определения количества пластинок лежит прибавление к крови консервирующей жидкости, предохраняющей кровь от свертывания и пластинки — от агглютинации.

Наиболее утвердившимся в последнее время методом является метод Фонио. Он очень прост и состоит в следующем. После взятия крови для определения гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов на место укола наносится капля 14% сернокислой магнезии. Кровь, вытекая из ранки, смешивается с раствором магнезии и окрашивает всю каплю. После этого стеклянной ниткой, концом пастеровской пипетки или парафинированной палочкой кровь на пальце смешивают с раствором и делают мазок обычным способом на стекле. Препарат высушивают, фиксируют метиловым алкоголем и красят очень интенсивно по Гимза или Папенгейму. Лучше препарат немного перекрасить. Кроме того, нужно избегать выпадения осадка краски, которую можно смешать с пластинками. На крашеном мазке, пользуясь иммерсионной системой и сетчатым окуляром или его подобием, сделанным из кусочка бумаги, с прорезанным в нем окошком, сосчитывают 1 000 эритроцитов и все пластинки, встретившиеся во время этого подсчета. Затем производят следующий расчет. Если, например, на 1 000 эритроцитов найдено 64 пластинки, а число эритроцитов, сосчитанных ранее в камере, равняется 3 500 000 в 1 мм<sup>3</sup>, то можно произвести следующее вычисление: на 1 000 эритроцитов найдено 64 пластинки, на 3 500 000 —  $x$ ; следовательно,

$$x = \frac{64 \cdot 3\,500\,000}{1\,000} = 294\,000 \text{ пластинок в } 1 \text{ мм}^3.$$

<sup>1</sup> Подробное описание лейкоцитарной формулы и различных способов ее вычисления (Егоров, Машковский), а также патологические изменения протоплазмы нейтрофилов см. Фрейфельд, Гематология, изд. 4-е, стр. 103—118, 1947.



Подсчет этот очень простой и быстрый, но требующий опытного глаза; однако эта опытность приобретается довольно скоро.

б) Диагностическое значение. Нормальное количество тромбоцитов различные исследователи указывают разное, в зависимости от способа, которым они пользуются. Для приведенного выше способа оно колеблется в пределах 250 000—300 000. Флесснер находил 700 000—800 000 тромбоцитов в 1 мм<sup>3</sup> крови. Возможно, что при подсчете по Фонио мельчайшие тромбоциты ускользают от счета; но весьма вероятно также, что при обработке по Флесснеру происходит распад некоторых тромбоцитов на мелкие формы и таким путем неправильно создается большое число.

Количество тромбоцитов подчинено нервно-вегетативным и гормональным влияниям. В период менструации и предменструальный период, а также у женщин с патологическими и климактерическими кровотечениями количество тромбоцитов резко колеблется.

Тромбоциты образуются, как указано выше, в костном мозгу; естественно, что все моменты, существенным образом влияющие на его функции, отражаются на количестве тромбоцитов. Так, например, такие яды, как бензин, бензол, свинец, золото (при лечении туберкулеза), чужеродный белок и др., могут вызвать тромбопению; злокачественное малокровие, алейкия, панмиелофтиз протекают с тромбопенией, полицитемия — с тромбоцитозом.

При большинстве острых инфекционных заболеваний отмечается уменьшение количества тромбоцитов с возвращением к исходному количеству в стадии реконвалесценции; исключением является столбняк, протекающий с тромбоцитозом. При так называемых вторичных анемиях количество тромбоцитов иногда повышено в отличие от злокачественного малокровия, при котором оно понижено. В наблюдениях над течением злокачественного малокровия, произведенных еще до открытия печеночной терапии, имеются указания, что в период ремиссии количество тромбоцитов увеличивается; если оно остается ниже 100 000, то ремиссия будет кратковременной. Изменения количества тромбоцитов находили при спленомегалиях типа болезни Банти и считают их достаточно характерными, чтобы на основании их подразделять эти патологические состояния на две группы: 1) тромбоцитопенические, при которых имеется склонность к кровоизлияниям, иногда резко выраженная; после спленэктомии количество тромбоцитов становится нормальным или остается несколько пониженным; 2) тромбоцитемические — с нормальным или слегка пониженным количеством тромбоцитов перед удалением селезенки и резко выраженным тромбоцитозом после операции; при этом отмечается склонность к тромбозам. Спленэктомия дает хороший эффект в первой группе и только временный и слабый — во второй. При хронической миелоидной лейкемии количество тромбоцитов нормально или слегка повышено в ранних стадиях и понижено в поздних. Абсолютное количество их в какой-либо период имеет небольшое значение, но колебания могут быть учтены при прогнозе: повышение отмечается перед наступлением ремиссии, понижение — перед ее концом. При хронической лимфатической лейкемии количество тромбоцитов понижено, в особенности если болезнь прогрессирует. При острых лейкозах количество тромбоцитов понижено, причем это понижение большей частью бывает очень резким. При злокачественном грануломатозе вначале имеется тромбоцитоз, переходящий в дальнейшем, вследствие токсического повреждения костного мозга, в тромбопению.

Наибольший интерес подсчет тромбоцитов представляет в группе геморрагических диатезов. При так называемой эссенциальной тромбопении



(болезнь Верльгофа) количество тромбоцитов, как видно уже из названия болезни, понижено иногда очень резко, причем имеется соответствие между степенью понижения и тяжестью клинических симптомов.

Так называемая ревматическая и другие пурпury и проявления геморрагического диатеза, типичные для цынги, протекают без тромбопении. В противоположность резкому уменьшению количества тромбоцитов, наблюдаемому при эссенциальной тромбопении, при гемофилии количество тромбоцитов не уменьшено. При кровотечениях, особенно травматических, количество тромбоцитов увеличено.

## КАРТИНА КРОВИ ПРИ НЕКОТОРЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Лабораторные данные о состоянии крови при некоторых заболеваниях имеют для распознавания решающее значение; сюда относятся заболевания кроветворного аппарата — агранулоцитоз, лейкомии, так называемое злокачественное малокровие и полицитемия. При большинстве других патологических процессов исследование крови способствует правильной оценке тяжести случая, суждению об эффективности лечебных мероприятий и т. п.

Само собой разумеется, что и для болезней первой группы окончательный диагноз все же ставится только на основании клинической картины в целом. Изменения, обнаруживаемые в периферической крови, всегда остаются только одним из симптомов болезни в ряду других симптомов, хотя бы в некоторых случаях и симптомом первостепенной важности.

1) **Болезни кроветворных органов.** а) Агранулоцитоз (злокачественная нейтропения). Геморрагическая алейкия (панмиелофтиз Франка). Апластическая анемия. Первые два заболевания характеризуются резким поражением лейкопоэтической системы костного мозга. Поэтому первое, что обращает на себя внимание при исследовании периферической крови, это резкое абсолютное и относительное уменьшение количества зернистых лейкоцитов — нейтрофилов, а часто также эозинофилов. При злокачественной нейтропении заболевание протекает остро. Малокровие и тромбопения обычно не развиваются. При алейкии процесс иногда развивается более медленно, хотя чаще наблюдаются острые случаи; поражается весь костный мозг в целом, иногда в определенной последовательности; наряду с нейтропенией, развиваются геморрагические явления и малокровие.

Когда отмечается нейтропения, тромбоцитопения и анемия без признаков регенерации, заболевание носит название панмиелофтиза.

Апластическая анемия, описанная Эрлихом, должна быть тоже отнесена в эту группу заболеваний кроветворного аппарата, так как хотя эта форма начинается с анемии и тромбоцитопении, однако постепенно присоединяется и нейтропения, т. е. выявляется картина панмиелофтиза. Изменения в костном мозгу при этих заболеваниях могут быть различные. Костный мозг может быть жирный, фибринозный (рис. 33) и клеточный, причем клетки эти будут плазматические, лимфоидные, макрофаги, единичные миелобласты и эритробласты, в некоторых случаях эозинофилы (рис. 34). Заболевания эти бывают различной этиологии: невыясненной, медикаментозной, токсической (бензол, перезимовавшие злаки), при длительных хронических инфекциях (туберкулез, сепсис и т. д.).

Клинические проявления при всех этих формах идут параллельно изменениям крови, т. е. при эритропении с уменьшенным количеством ретикулоцитов и полихроматофилов все время неудержимо нарастает



анемия, при тромбоцитопении отмечаются резкие кровотечения и кровоизлияния, при нарастающей лейкопении, достигающей иногда до нескольких сотен, появляются некрозы в зеве, во рту и в других частях тела.

б) Пернициозная анемия. Заболевание относится к анемиям, возникающим на почве распада эритроцитов и их недостаточного образования, вследствие того что кроветворение принимает эмбриональный характер. Все указанное происходит вследствие отсутствия в желудочном содержимом и печени антианемического вещества Кестля. Для этого заболевания характерны высокий цветной показатель (выше 1,3), мегало-

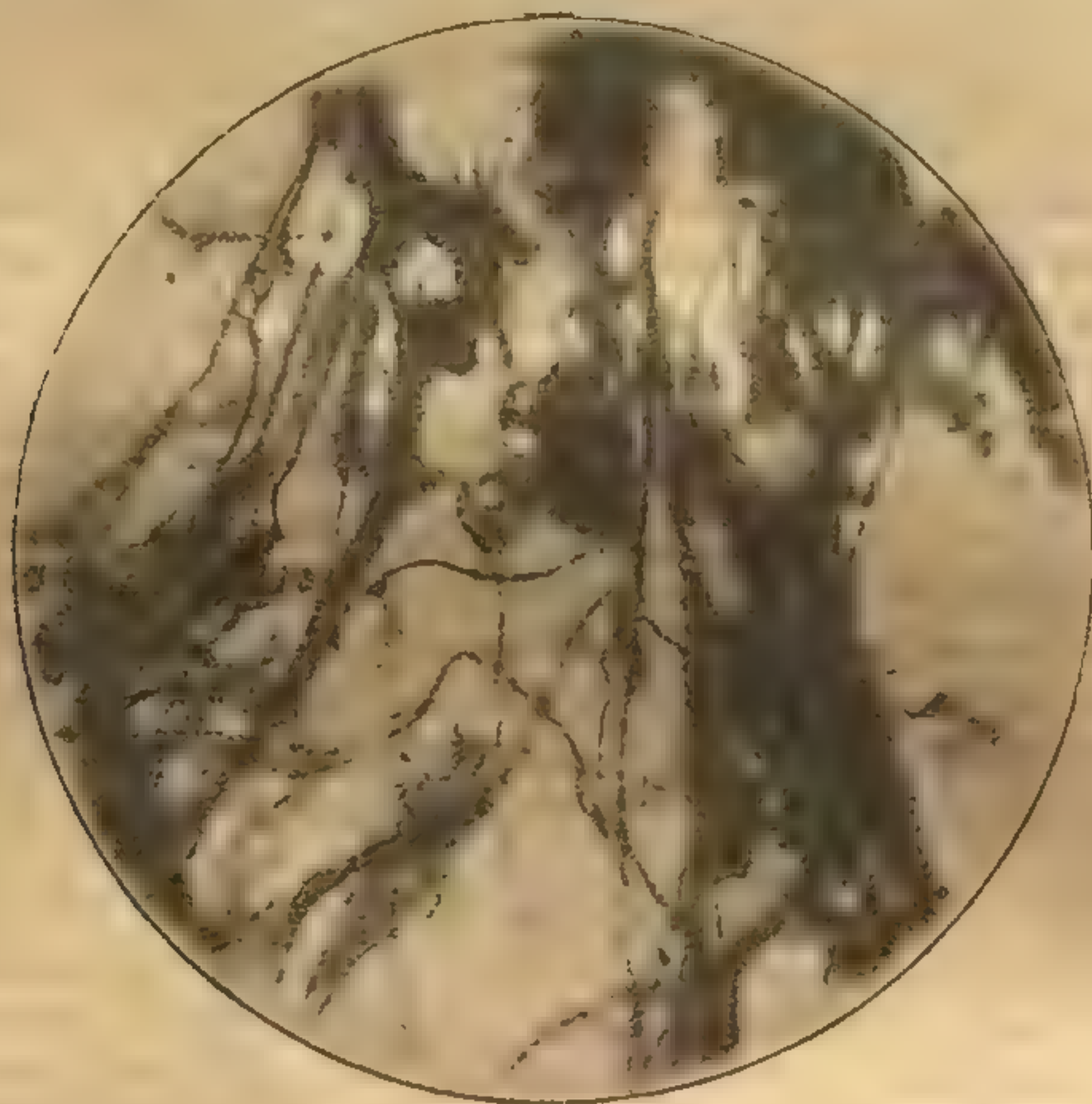


Рис. 33. Фиброзный костный мозг при панмиелофтизисе.

цитоз, резко выраженный анизоцитоз и пойкилоцитоз, ядерные формы (нормо-, макро- и мегалобласты), тельца Жолли, кольца Кебота; число молодых полихроматофильных клеток, наоборот, уменьшено. При большом количестве ядерных клеток и полихроматофилов (а при суправитальной окраске — ретикулоцитов) до начала лечения препаратами печени диагноз злокачественного малокровия становится мало правдоподобным. Со стороны белой крови количество нейтрофильных лейкоцитов уменьшено, молодых форм (регенеративных, палочкоядерных, юных) обычно мало; в то же время встречаются, хотя и немногочисленные, миелоциты; зрелые лейкоциты отличаются гиперсегментацией. Количество моноцитов понижено; в тяжелых случаях они почти полностью отсутствуют. Количество тромбоцитов обычно понижено. Сыворотка крови золотистожелтого цвета. В моче имеется уробилин. Оценка (лабораторная) тяжести случая делается по перечисленным признакам, а также в значительной мере по количеству ретикулоцитов. Ремиссии, самопроизвольные или вызванные лечением препаратами печени, в большинстве случаев (но не всегда) характеризуются резким увеличением количества ретикулоцитов, а также эозинофилов и увеличением до нормы общего количества лейкоцитов и тромбоцитов. Гемоглобин и эритроциты также доходят до нормальных цифр, причем цветной показатель будет меньше единицы. В костном мозгу (рис. 35) до лечения обнаруживается большое количество мегалобластов; часто они бывают в стадии митоза (рис. 36), промиело-



цитов и полисегментированных нейтрофилов. После лечения печеночным препаратом картина костного мозга постепенно становится нормальной.

В желудочном соке этих больных отмечается полное отсутствие соляной кислоты и ферментов, вследствие резкого атрофического процесса в желудочной стенке.

При семейной гемолитической желтухе малокровие бывает с цветным показателем ниже единицы и близким к единице. Эритроциты кажутся мелкими (микроцитоз), вследствие изменения формы из двояковогнутой в шаровидную. В отличие от истинных микроцитов объем их не уменьшен; в крови сохраняется также нормальное соотношение между количеством гемоглобина и числом эритроцитов. Обычно отмечается резкий ретикулоцитоз и пониженная резистентность эритроцитов. Реакция на билирубин в крови, как и при острой гемолитической анемии, замедленная, косвенная; реакция на уробилин в моче ясно или резко положительная. Реакция на желчные пигменты в моче отрицательная.

в) Острая гемолитическая анемия. Заболевание, характеризующееся острым или подострым началом. Наблюдается главным образом у молодых, иногда у детей. Желудочный сок обычно нормального состава. Анемия быстро развивается, характер ее гиперхромный. Количество ретикулоцитов и нормобластов увеличено. Со стороны клиники отмечается желтуха, высокая температура. Костный мозг яркокрасный, с большим количеством эритробластов и малым количеством гранулоцитов. Эритробласты скопляются вокруг сосудов.

г) Полицитемия. Необходимо строго отличать полицитемию от полиглобулии. Первая является тяжелым, обычно прогрессирующим заболеванием с длительной, резко выраженной повышенной активностью всей миелоидной паренхимы. Полиглобулия же по существу не болезнь, а только симптом, результат приспособления к недостатку кислорода в окружающей среде, причины которого в большинстве случаев ясны. Распознавание ставится по всей клинической картине. В гематологическом отношении полицитемия характеризуется резко повышенным количеством эритроцитов — до 8 млн. и больше, в ряде исключения даже до 10—13 млн.; количество ретикулоцитов увеличено; нередко можно найти на мазке несколько нормобластов. Резко нарушено соотношение между объемом эритроцитов и объемом плазмы: последний резко уменьшен, так что сыворотка плохо отстаивается и вместо обычных 50% удается отсосать всего 10—20%. Имеется нейтрофильный лейкоцитоз — до 30 000 лейкоцитов с 80% и больше нейтрофилов; имеются юные нейтрофилы и даже миелоциты. Наоборот, количество лимфоцитов понижено не только относительно, но и абсолютно. Количество базофилов часто увеличено относительно, а следовательно, имеется очень большое абсолютное число

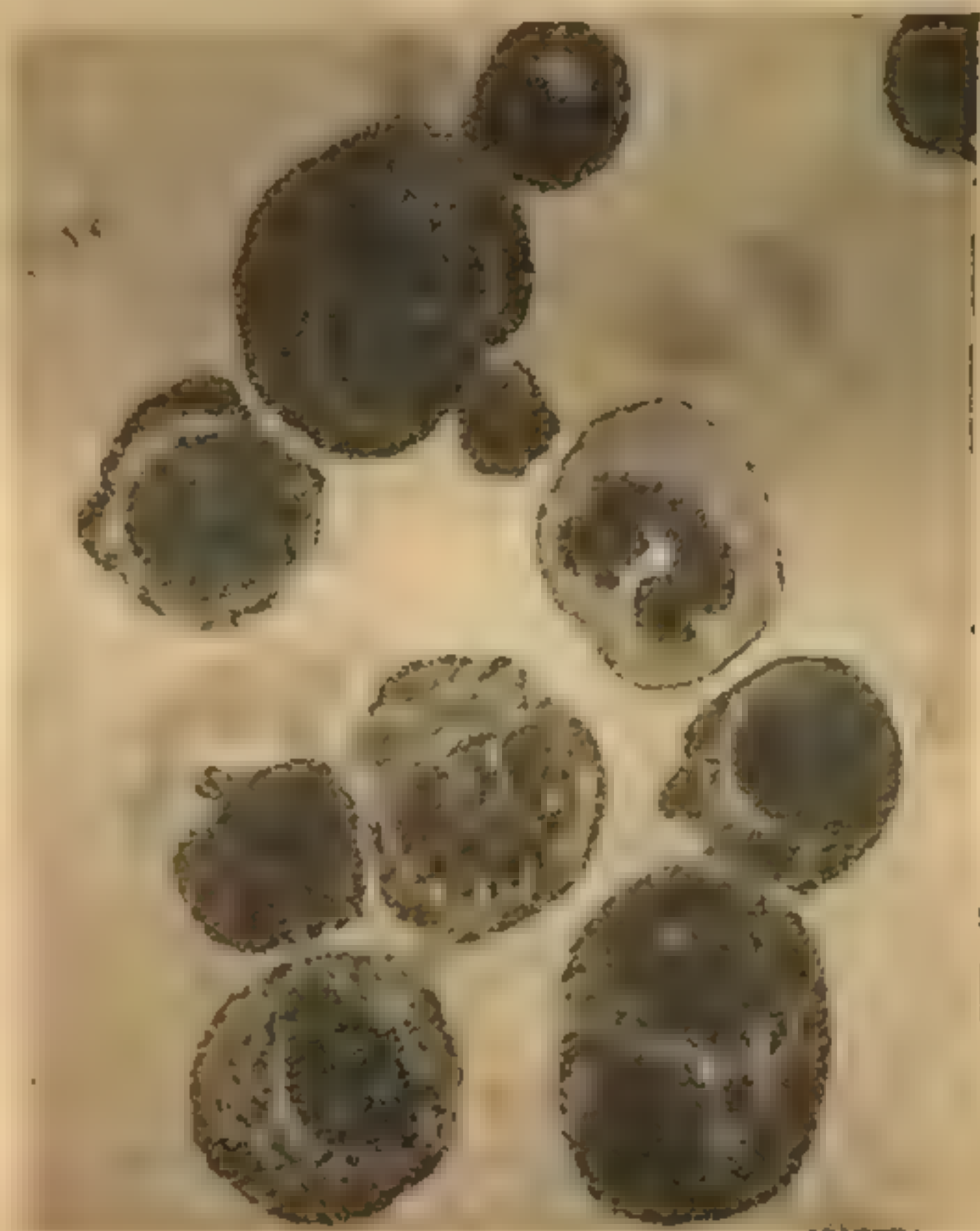


Рис. 36. Митоз мегалобластов в костном мозгу при пернициозной анемии.



базофилов. Часто увеличено и количество эозинофилов и моноцитов, а также бляшек. При полиглобулии со стороны красной крови количество молодых клеток почти не увеличено, нормобласты никогда не обнаруживаются. Нет несоответствия между объемом плотной и жидкой части. Лейкоцитоза нет вовсе или он выражен слабо; то же относится и к нейтрофилам; отсутствуют и остальные изменения со стороны белой крови. При этом заболевании описаны две его формы: с повышением кровяного давления Гейсбока и с резким увеличением селезенки Вакеза. Однако между этими двумя формами имеются часто переходные. Кроме того, надо указать, что селезеночная форма дает иногда переход в миелоидную лейкемию. При полицитемии резко увеличена вязкость крови.

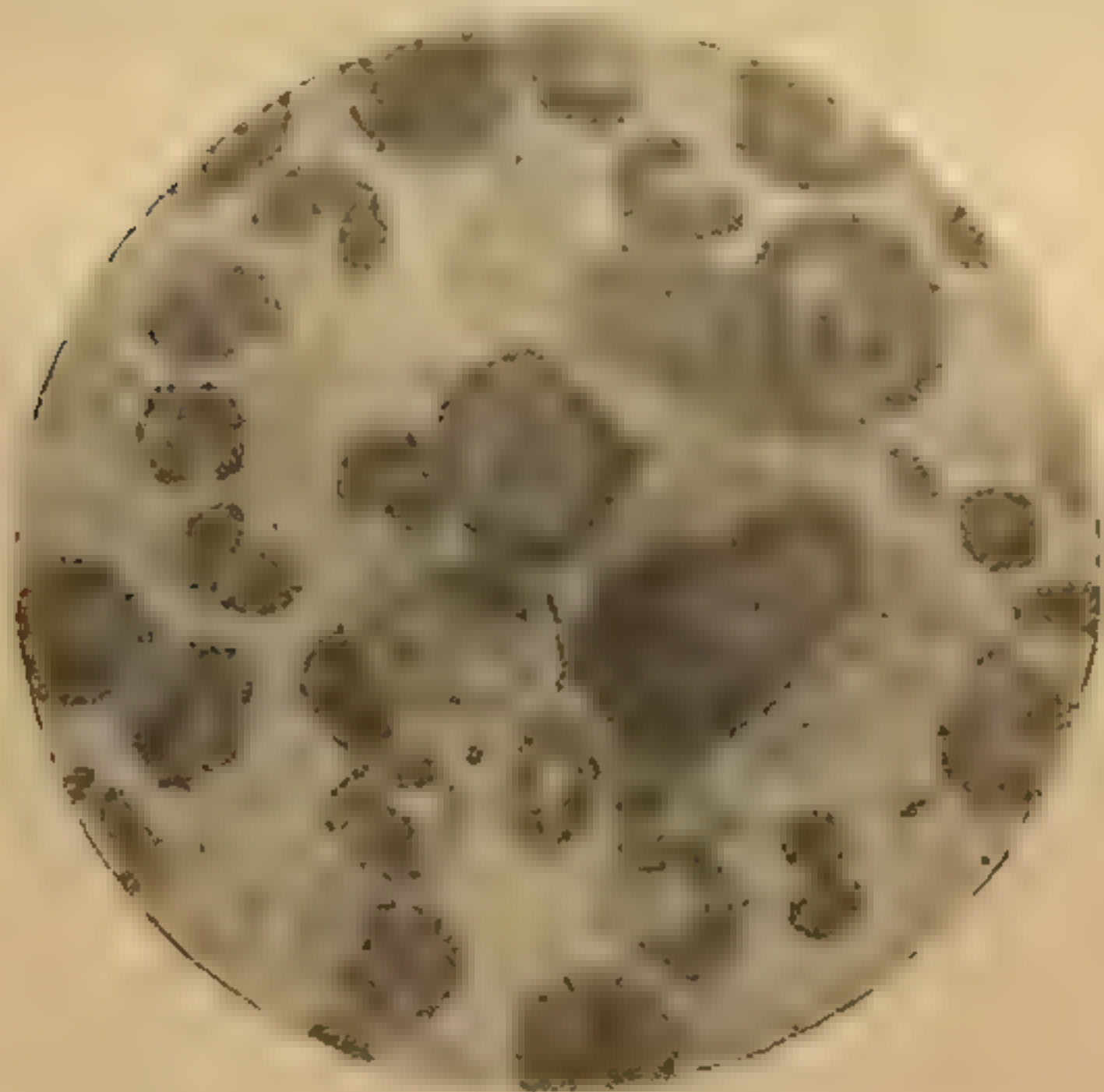


Рис. 37. Костный мозг при хронической миелоидной лейкемии.

д) Лейкемия (лейкоз). Лейкемии по течению делятся на острые и хронические. Среди последних различают миелоидные, лимфатические и моноцитарные.

Миелоидная лейкемия с количеством лейкоцитов в пределах 100 000 отличается от резко выраженного лейкоцитоза при некоторых инфекционных заболеваниях (сепсис) наличием в периферической крови незрелых клеток — не только миелоцитов, но и еще более молодых форм; далее, дифференциально-диагностическое значение имеет абсолютное, а иногда и относительное увеличение количества эозинофилов и базофилов. Анемия развивается в конце заболевания.

То же относится к миелоидной лейкемии, протекающей с относитель-

но небольшим лейкоцитозом. Картина костного мозга при хронической миелоидной лейкемии мало отличается от состава периферической крови (рис. 37).

Лимфатические лейкемии характеризуются уже самым преобладанием лимфоцитов, относительным и абсолютным, и в равной степени наличием молодых, патологических и малорезистентных форм (рис. 38, подробнее см. «Лимфоциты»).

При оценке (лабораторной) тяжести случая большое значение имеет анемия и падение количества нейтрофилов.

Острые лейкемии — в большинстве случаев миелоидные. Имеется полное нарушение лейкопоза в отношении нейтрофильного ряда; эозинофилы и базофилы иногда сохраняются. Преобладают миелобласты большие (рис. 39) и средние; иногда наблюдаются микробластические лейкемии. Последние особенно трудно отличить от лимфатических лейкемий. Основным отличием служит оксидазная и пероксидазная реакция. Большинство миелобластов, правда, ее не дает, так что отрицательный результат не исключает миелобластической природы клетки; но в некоторых экземплярах она все же оказывается положительной, что и дает возможность разобраться в гематологической картине. В костном мозгу также отмечаются различные формы миелобластов и полное отсутствие зрелых клеточных форм (рис. 40).

При острой лейкемии в крови имеется резкое падение гемоглобина, эритроцитов и тромбоцитов, развивается неуклонная анемия и гемор-



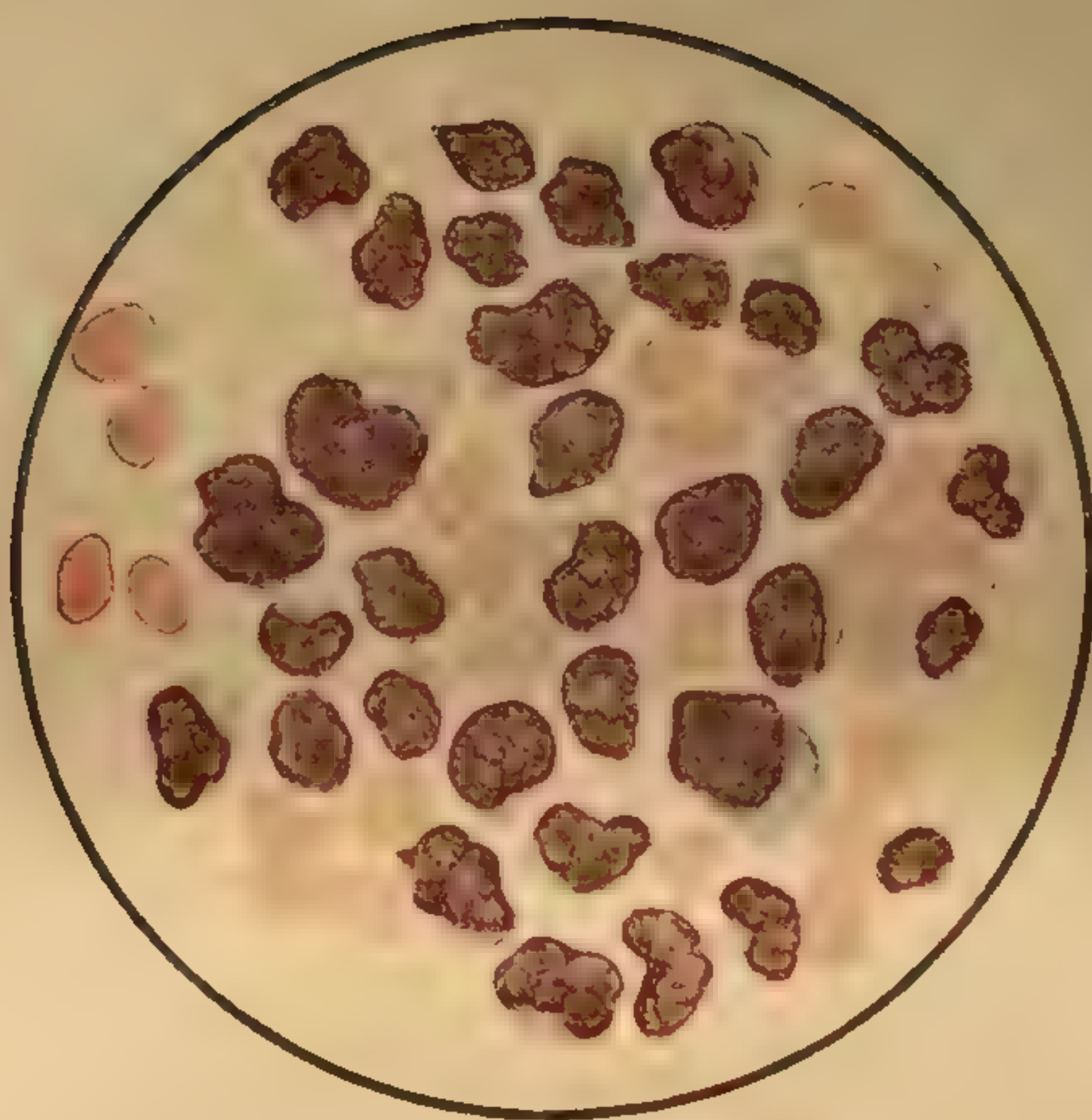


Рис. 40. Костный мозг при остром лейкозе.

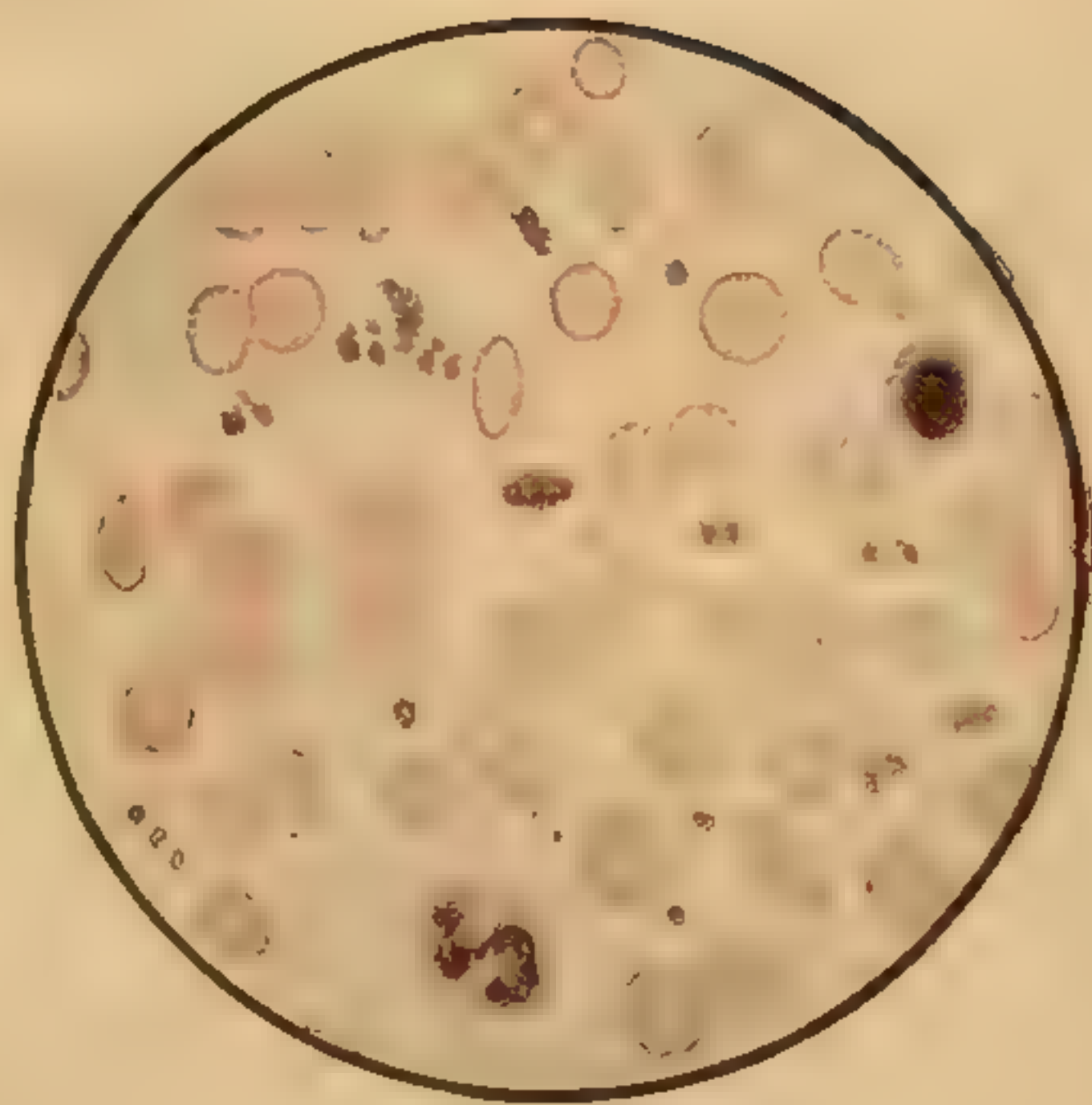


Рис. 41. Гипохромная анемия.

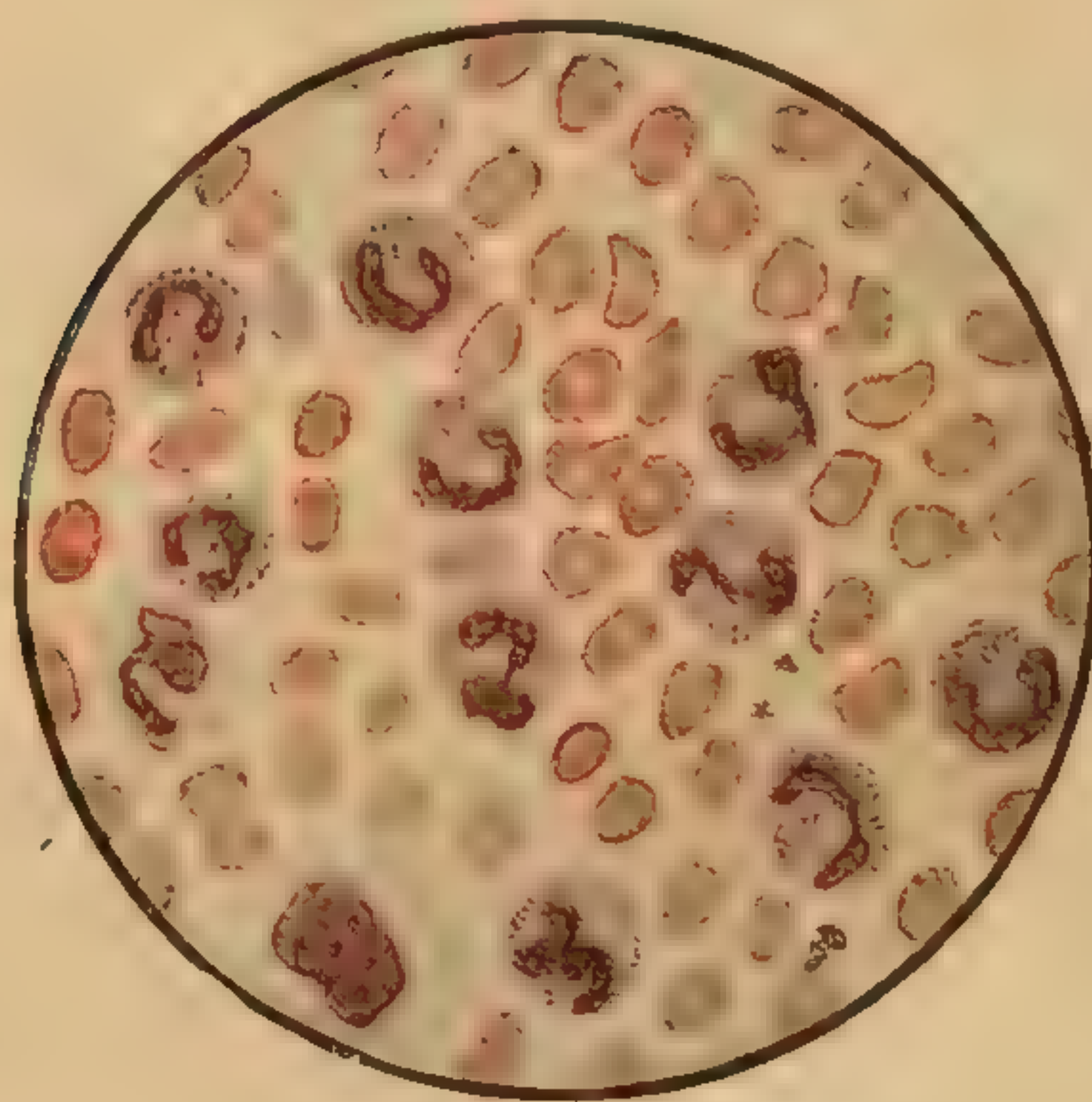


Рис. 42. Периферическая кровь при сепсисе.



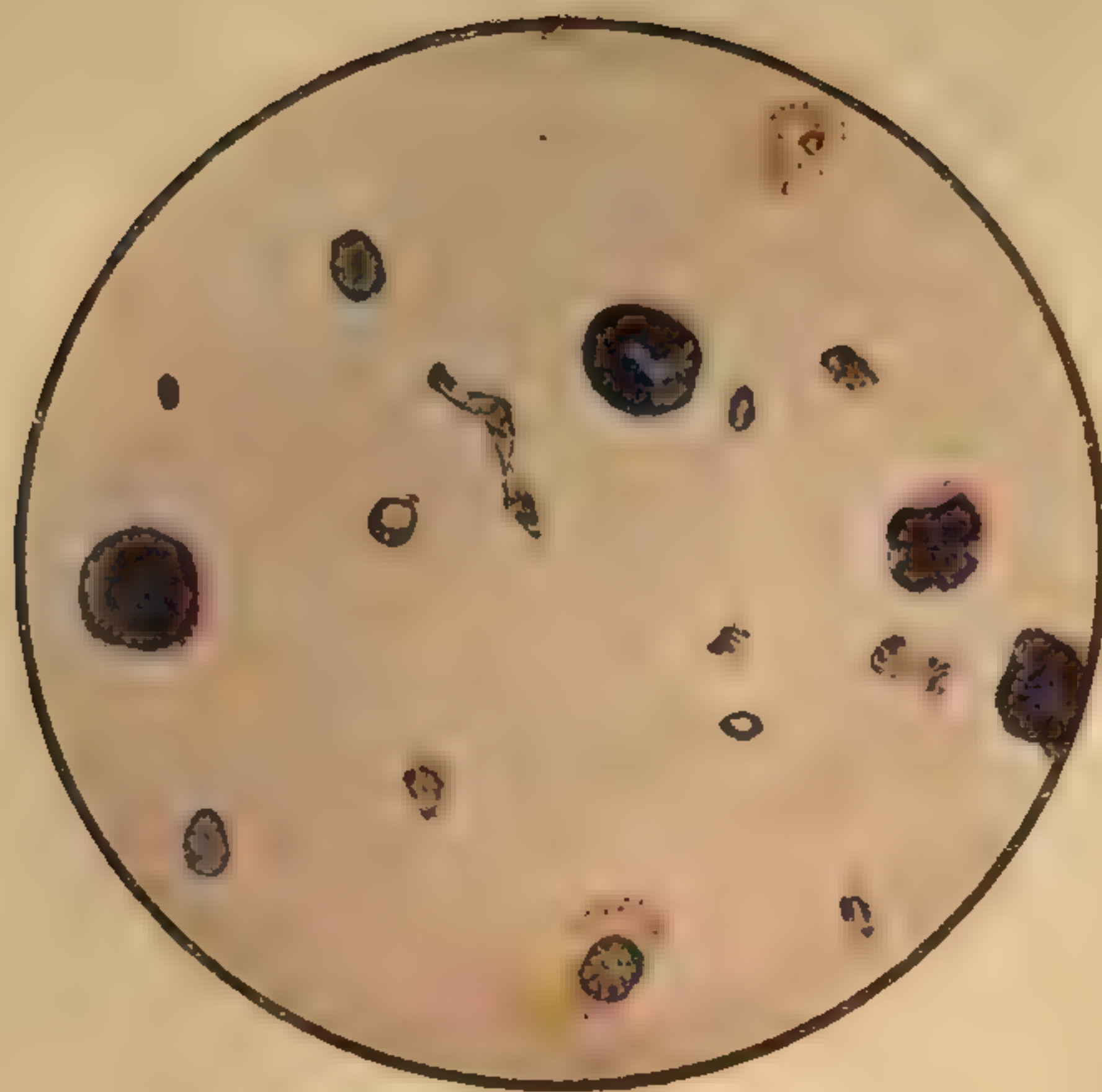


Рис. 44. *Plasmodium vivax* в толстой капле. Кольца различной величины, одна гамета (внизу), лейкоциты. Окраска по Романовско-му-Гимза.

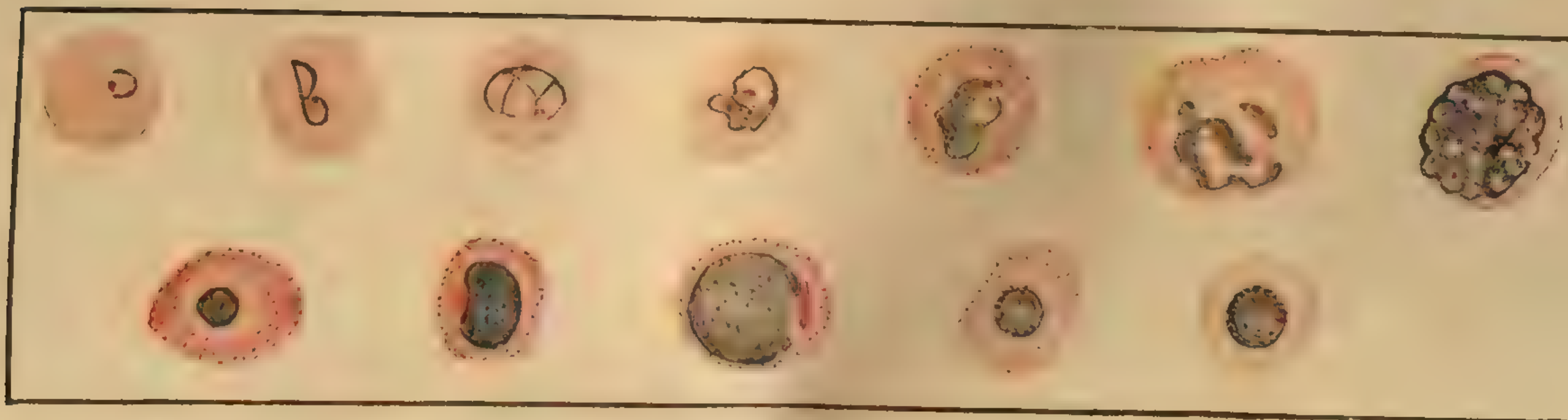


Рис. 45. *Plasmodium vivax*, цикл развития.

Верхний ряд — бесполое формы (шизонты), в пятом и шестом эритроците — зернистость Шюфнера, в конце ряда — форма деления (меруляция). Нижний ряд: 3 — женские гаметы и 2 — мужские гаметы (справа). Окраска по Романовскому-Гимза.





Рис. 46. *Plasmodium malariae* цикл развития.  
Верхний ряд—шизонты, нижний ряд—женская гамета, мужская гамета  
и форма деления (меруляция).

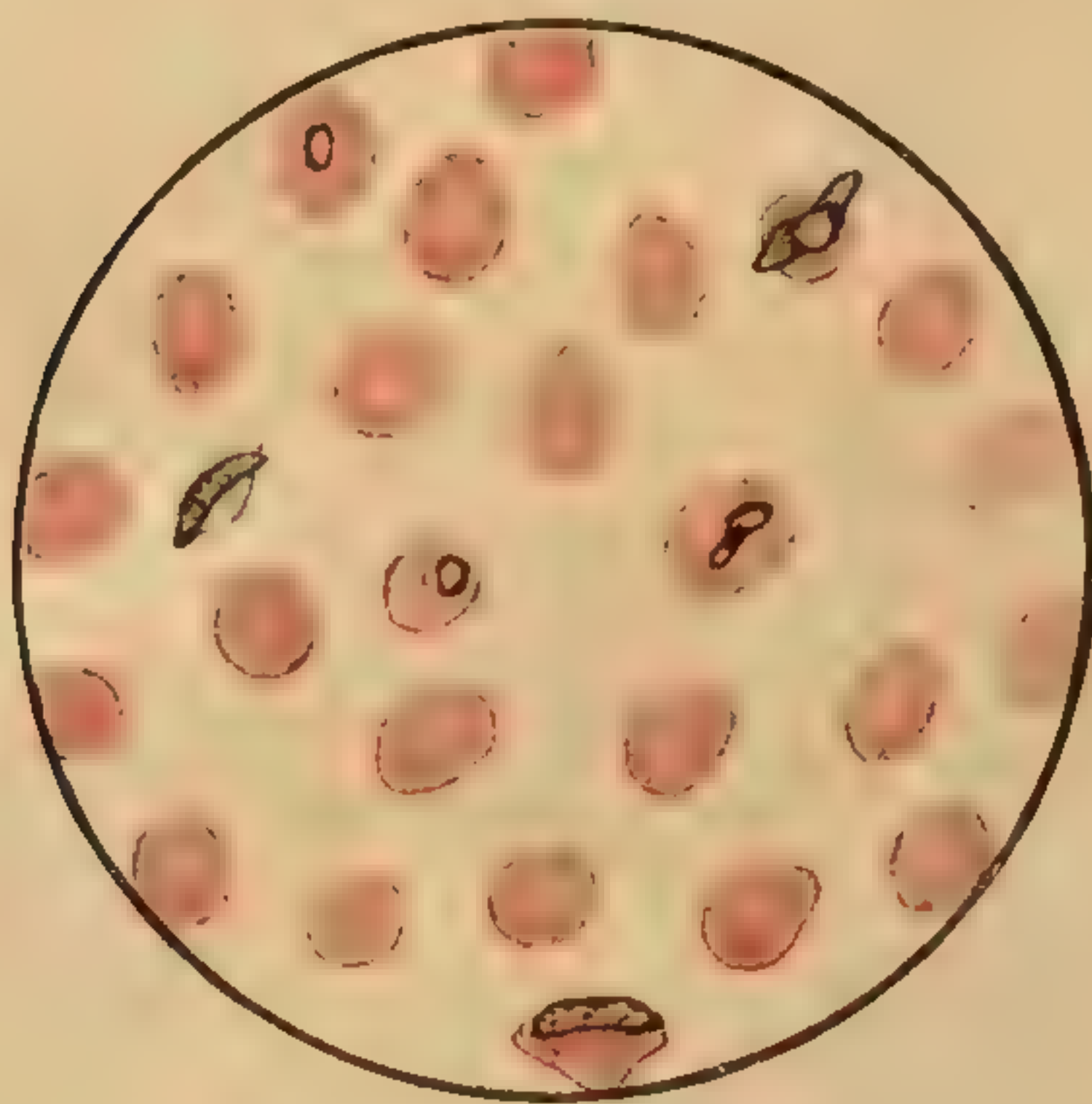


Рис. 47. *Plasmodium falciparum*. Кольце-  
видные формы и полулуния (гаметы).  
Окраска по Романовскому-Гимза.



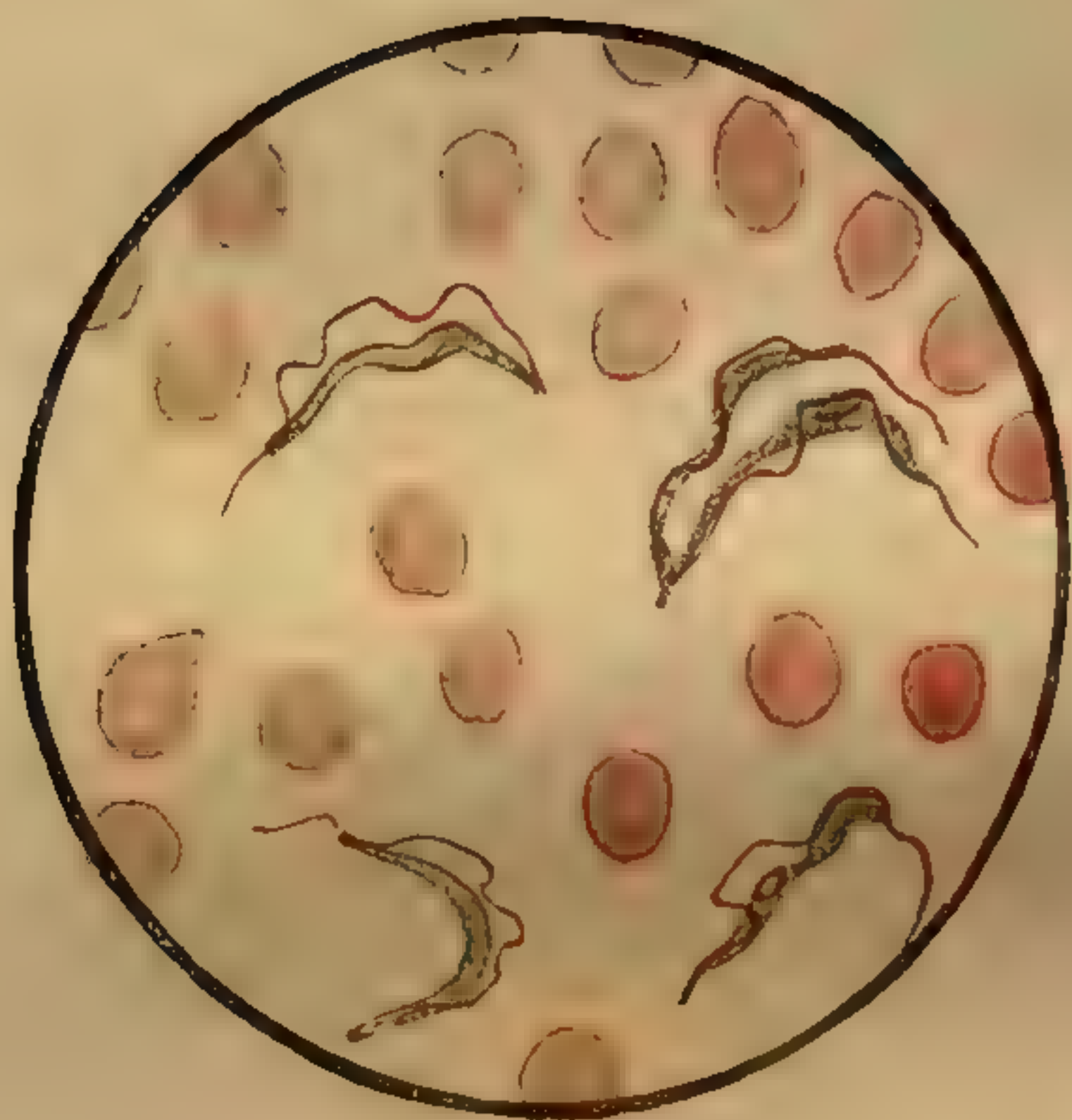


Рис. 48. Трипаносомы в крови человека.  
Окраска по Романовскому-Гимза.

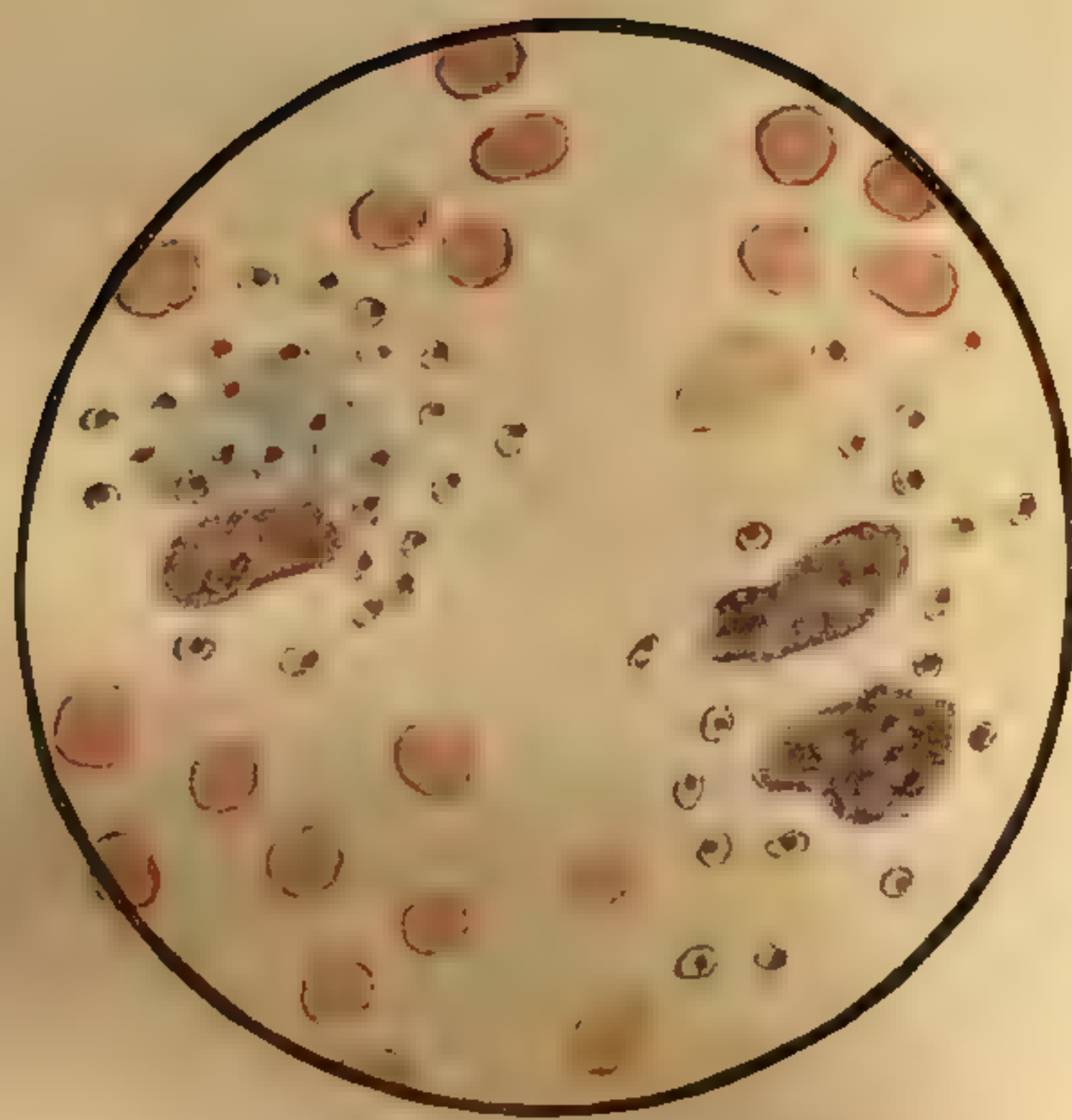


Рис. 49. *Leishmania Donovanii*. Много-  
численные мелкие яйцевидные образова-  
ния с хроматиновыми ядрами. Окраска  
по Романовскому-Гимза.

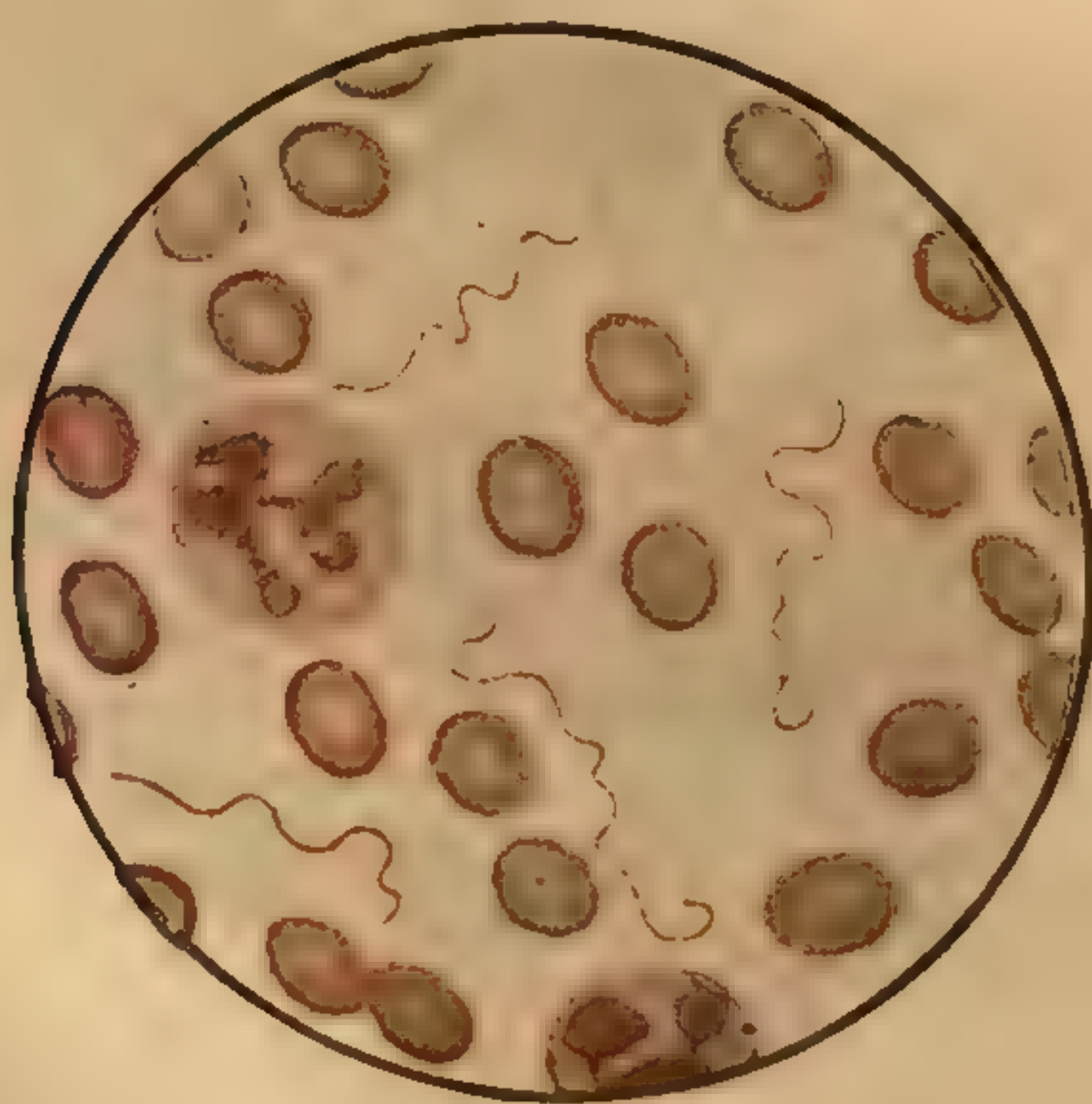


Рис. 50. Спирохеты возвратного тифа  
в крови. Окраска фуксином.



рагический диатез. Эти симптомы не всегда одинаково выражены. Те формы, в которых геморрагический диатез с самого начала проявляется особенно резко, протекают исключительно тяжело и быстро заканчиваются смертью.

Для отличия острой миелоидной лейкемии от заболеваний с миелоидной реакцией важно помнить, что при первой имеется резкое несоответствие между большим количеством миэлобластов и малым количеством миэлоцитов и иных форм: преобладают миэлобласты и зрелые нейтрофилы. При миелоидных же реакциях, даже резко выраженных, например, у детей, миэлобласты все же встречаются редко и в то же время имеется много миэлоцитов (иногда 10 и даже 20%); кроме того, отмечается много моноцитов.

Моноцитарная лейкемия встречается крайне редко. Количество лейкоцитов исчисляется десятками тысяч клеток, причем до 80% моноцитов в большинстве вполне зрелых.

е) Ангина с лимфоцитарной и моноцитарной реакцией. Картина крови при названных заболеваниях имеет много сходного. Общее количество лейкоцитов резко колеблется в различных случаях, а также на протяжении заболевания у одного и того же больного. В первом периоде болезни довольно часто отмечается нормальное количество лейкоцитов или даже лейкопения; позднее лейкоцитоз до 20 000 и даже 40 000, при этом до 50% лимфоцитов и больше с большим количеством патологических форм. В других случаях преобладают моноциты.

ж) Болезнь Верльгофа — эссенциальная тромбопения Франка. При этом заболевании отмечается резкое уменьшение количества кровяных пластинок, удлиненное время кровотечения, уменьшенная ретрактильность сгустка, положительный сосудистый симптом. В костном мозгу все форменные элементы сохранены, количество же мегакариоцитов увеличено, однако кровяные пластинки от них не отшнуровываются. Хороший эффект получается от спленэктомии. Клинические проявления болезни — геморрагическая сыпь и кровоточивость.

з) Гемофилия. Заболевание наследственное с типичной передачей его по мужской линии через остающихся здоровыми женщин. Кровоточивость наблюдается вследствие расстройства свертывания крови. Остальные симптомы геморрагического диатеза отрицательны.

и) Болезнь Шейнлейн-Геноха. При этом заболевании изменений со стороны морфологического состава и физико-химических свойств крови не отмечается. Сосудистые симптомы не всегда положительны. Заболевание проявляется в виде простой пурпуры (петехии на коже) или к этому присоединяется поражение сосудов либо кровотечения из желудочно-кишечного тракта.

2) Анемии при различных заболеваниях. Кроме анемий, наблюдающихся при заболевании кроветворного аппарата, нужно указать на анемии при различных заболеваниях.

а) Анемии после кровотечений и инфекционных заболеваний, а также на почве свинцового отравления (рис. 41) и другие так называемые вторичные анемии отличаются некоторыми общими признаками, служащими для оценки тяжести болезни. Цветной показатель ниже единицы. Малокровие, развившееся после относительно небольшого кровотечения или после большого кровотечения, но при наличии костного мозга с полноценной функцией, протекает с цветным показателем, близким к единице, с большим количеством ретикулоцитов, нормо- и макроцитозом. Количество лейкоцитов (за счет нейтрофилов) и тромбоцитов обычно повышено соответственно усиленной функции костного мозга. При очень



больших кровотечениях или при меньших кровотечениях, но при неполноценном костном мозге регенерация протекает с показателем значительно ниже единицы (до 0,5); эритроциты уже на мазке производят впечатление бледно окрашенных; появляются микроциты. Появление нормобластов не должно оцениваться как нарастание ретикулоцитов, — оно нередко служит признаком патологической регенерации, а не идет параллельно увеличению количества ретикулоцитов. О базофильной зернистости и ее диагностическом значении см. «Базофильная зернистость».

Малокровие после тяжелого кишечного кровотечения отличается с гематологической точки зрения тем, что количество гемоглобина и число эритроцитов уменьшаются в приблизительно одинаковой степени, так что эритроциты окрашены нормально и цветной показатель равен единице (если раньше не было повторных кровотечений). Количество ретикулоцитов увеличивается только спустя несколько дней. Имеется нейтрофильный лейкоцитоз без токсических клеток.

б) Анемия при нефрите. Большой интерес представляет малокровие при нефрите, которое всегда служит признаком тяжести процесса; уменьшение количества гемоглобина до 50—40% расценивается как очень тяжелый симптом.

в) Раковые анемии в большинстве случаев относятся к типу гипохромной. Имеется много мелких бледных клеток разнообразной величины (анизоцитоз); цветной показатель понижен и продолжает понижаться. Эритроцитов обычно не менее 2 млн., но больной ощущает резкую слабость. Имеется небольшой нейтрофильный лейкоцитоз, иногда миелоциты и относительная лимфопения; число бляшек увеличено. Реже при раке встречаются анемии с повышенным цветным показателем; в этих случаях имеются метастазы в костном мозгу; нередко, особенно у молодых, можно найти на мазке довольно большое количество нормобластов, а также миелоцитов. Не встречаются при раковых анемиях мегалобласты и мегалоциты, резкая нейтрофилия с токсическими клетками, лейкопения, резко выраженные гемолитические процессы, уменьшение количества бляшек.

г) Малокровие у беременных женщин развивается с такой закономерностью, что может быть названо физиологическим. Оно начинается уже на 8-й неделе беременности и постепенно нарастает, не достигая, однако, значительных размеров. По типу это гипохромная анемия. После 33—35-й недели может наступить дальнейшее ухудшение вследствие роста потребности плода, расстройства желудочной секреции и др. Гипохромный тип сохраняется и в этот период. Послеродовой период, даже и после совершенно нормальной беременности и родов, обычно сопровождается некоторой степенью малокровия гипохромного типа, причем улучшение происходит постепенно. Факторы, усиливающие степень малокровия при беременности, — сифилис, геморрагии, различные инфекции. Независимо от наличия какого-либо из указанных факторов малокровие у беременных в некоторых случаях принимает совершенно другой характер: оно по некоторым признакам напоминает гиперхромные анемии (изменений со стороны нервной системы нет) и может достичь весьма сильной степени; течение его, однако, доброкачественное, поскольку после прекращения вызывающего момента происходит выздоровление. Беременность характеризуется также ускорением оседания эритроцитов, которое постепенно нарастает, достигая максимума на первой неделе после родов и на третьей неделе послеродового периода постепенно приходит к норме. Количество тромбоцитов сильно увеличивается. Свертываемость крови ускорена.

д) Хлороз. Цветной показатель значительно ниже единицы. Лейкоцитоз и тромбоцитоз не выражены.



е) Ахилическая анемия. Большое значение в возникновении анемии имеет состояние секреции желудка. При отсутствии соляной кислоты в желудочном соке развивается так называемая ахилическая анемия. При ней главным образом отмечается значительное уменьшение количества гемоглобина, вследствие плохого усвоения железа. Цветной показатель падает до 0,5%. В остальном картина крови при подобной анемии, а также при хлорозе по лабораторным данным мало отличается от описанных анемий с другой этиологией.

3) Инфекционные и воспалительные процессы. Реакция со стороны крови при инфекционных заболеваниях и воспалительных процессах зависит как от характера и степени тяжести инфекции и активности реакции организма, так и от состояния самого костного мозга. Не вполне полноценный костный мозг при прочих равных условиях дает иную картину крови, чем полноценный.

При многих инфекционных заболеваниях с исходом в выздоровление в первом периоде наблюдается нейтрофильный лейкоцитоз с уменьшением эозинофилов вплоть до отсутствия их, а к концу заболевания нарастает количество моноцитов, лимфоцитов и эозинофилов. Само собой разумеется, что это отнюдь не означает, что, например, нарастание количества эозинофилов всегда является признаком близкого выздоровления. Как известно, скарлатина с самого начала протекает с эозинофилией; появление эозинофилов наблюдается иногда при хроническом сепсисе, хотя ни клиническая картина того момента, ни дальнейшее течение болезни не дают основания констатировать какое-либо улучшение. Указанная смена явлений представляет собой только часто повторяющуюся общую схему.

Детский кроветворный аппарат отличается чрезвычайно большой лабильностью, поэтому различные инфекции отражаются на картине крови в большей степени, чем у взрослых. Это влияние выражается не только в изменении количества и взаимоотношения отдельных видов лейкоцитов, но и в более быстром и интенсивном развитии малокровия как вследствие повышенного распада эритроцитов, так и вследствие токсического повреждения костного мозга. Таким образом, мазок детской крови во время какой-либо инфекции представляет собой весьма пеструю картину: бледные эритроциты различной величины и неправильной формы, полихроматофилы и пр., нейтрофилы с отсутствующей или очень скудной зернистостью, с вакуолизированной или содержащей глыбки и различные включения протоплазмы, клетки с пикнотическими ядрами, с токсическими зернами и т. п. Указанную выше схему изменений на протяжении инфекционных заболеваний с благоприятным исходом — нейтрофильный лейкоцитоз, моноцитоз, лимфоцитоз, эозинофилия — можно наблюдать и в детской крови.

В дальнейшем будут указаны главным образом те заболевания, картина крови которых резко отличается от схемы, и во избежание многочисленных повторений только те особенности, которыми они от нее отличаются.

а) Крупозная пневмония. Картина крови при нормальном течении крупозной пневмонии в общем укладывается в описанную схему; обращают на себя внимание лейкоцитоз, левый сдвиг; часто появляются нейтрофилы с юным ядром и резкие токсические изменения нейтрофилов: сетчатость, затем комковатость и зернистость протоплазмы, тельца Деле; перед кризисом появляются дегенеративные нейтрофилы с вакуолизированной протоплазмой и пикнотическим ядром; можно обнаружить обычно и гигантские лейкоциты. Токсичность лейкоцитов иногда держится дольше, чем все другие признаки болезни. Падение количества лейкоцитов идет очень быстро; резко нарастают эозинофилы и лимфоциты.



б) Брюшной тиф. Характерна нейтропения с самого начала, точнее — со второго дня болезни; при этом имеется левый сдвиг; в то же время эозинофилы уменьшаются до единичных экземпляров или совсем исчезают. К концу второй недели начинают нарастать лимфоциты, затем эозинофилы; как правило, на третьей неделе эозинофилы большей частью имеются. Осложнения иногда протекают с лейкоцитозом; поэтому для их раннего распознавания частые повторные исследования крови могут быть очень полезными. Однако важнейшее из осложнений при брюшном тифе — прободение кишок — в половине случаев протекает без лейкоцитоза; следовательно, откладывать оперативное вмешательство на основании отсутствия лейкоцитоза нельзя. Если имеются основания предполагать воспаление брюшины, то рекомендуется повторять исследования крови каждый час: повышение количества лейкоцитов с 6000 до 10000 с нарастанием нейтрофилов с 55 до 70% может быть важным диагностическим признаком.

в) Паратифы. Паратифы протекают с такой же картиной крови, как и брюшной тиф. Однако нейтропения выражена менее резко. Паратиф Б иногда дает в начале заболевания незначительный лейкоцитоз.

г) Сыпной тиф. В начале наблюдается нормальное или чаще пониженное количество лейкоцитов; в дальнейшем иногда наблюдается лейкоцитоз за счет нейтрофилов, однако не свыше 12000. Сдвиг влево бывает большой — до миелоцитов; в то же время можно встретить много дегенеративных форм нейтрофилов. Эозинофилы исчезают полностью. Резко увеличено количество плазматических клеток — до 6—10%. В случаях с благоприятным течением лейкоцитоз уменьшается с 15-го дня болезни; при осложнениях количество лейкоцитов, наоборот, значительно повышается.

д) Скарлатина. Нейтрофильный лейкоцитоз со значительным сдвигом влево; резкие токсические изменения нейтрофилов (см. «Окраска токсической зернистости», стр. 30), тельца Деле. Лимфопения с постинфекционным лимфоцитозом. Моноциты во все время болезни увеличены в количестве. Еще более характерна имеющаяся на всем протяжении болезни эозинофилия. В тяжелых формах она отсутствует.

е) Корь. Лейкоцитоз с нейтрофилией и эозинофилией в инкубационном периоде; в первые 2 дня болезни нейтропения и эозинопения; постепенный возврат к нормальным или повышенным количествам; количество моноцитов все время увеличено.

ж) Краснуха. Краснуха протекает с лейкопенией за счет нейтрофилов, с молодыми лимфоцитами и большим количеством плазматических клеток.

з) Коклюш. Коклюш отличается резко выраженным лимфоцитозом при увеличенном общем количестве лейкоцитов. В пароксизмальном периоде обычно находят 15000—20000 лейкоцитов и 60—70% лимфоцитов. В очень тяжелых случаях количество лейкоцитов доходит до 60000—70000; картина крови напоминает лимфатическую лейкемию.

и) Оспа. Данные различных клиницистов колеблются в широких пределах, очевидно, соответственно разнообразию течения самого заболевания. В период инкубации часто имеется лейкопения с относительным лимфоцитозом. Позднее часто наблюдается лейкоцитоз, причем имеется склонность также к лимфоцитозу. Среди нейтрофильных клеток обращает на себя внимание большое количество миелоцитов; имеются и эозинофильные миелоциты. Отмечено увеличение количества плазматических клеток и иногда моноцитов.

к) Дифтерия. В легких случаях особых изменений со стороны крови не наблюдается. В более тяжелых случаях отмечается, начиная обычно



с 3-го дня, резко выраженный лейкоцитоз (до 30 000 и выше) обычного типа: нарастание нейтрофилов, левый сдвиг; нередко появляются миелоциты; в тяжелых случаях количество последних может быть очень велико. Эозинофилы исчезают из периферической крови. В злокачественных случаях наблюдается обратная картина; лейкопения, уменьшение количества нейтрофилов; быстро развивается малокровие с тромбопенией (см. также «Токсическая зернистость нейтрофильных лейкоцитов»).

Картина белой крови при дифтерии может иметь дифференциально-диагностическое значение: резко выраженный лейкоцитоз отличает ее от ангины Венсана, а отсутствие эозинофилов — от скарлатины.

л) Подострый эндокардит, вызванный зеленеющим стрептококком. В большинстве случаев постепенно прогрессирующее малокровие; иногда картина малокровия временно затемняется полиглобулией вследствие упадка сердечной деятельности. Изменения со стороны белой крови отличаются большим разнообразием. Некоторые случаи протекают без лейкоцитоза и без нейтрофилии; в то же время почти во всех случаях имеется левый сдвиг. Иногда имеется увеличение количества лейкоцитов до 15 000—20 000 с резким преобладанием нейтрофилов (80—90%); особенно часто это наблюдается при развитии эмболий и инфарктов. Другим важным изменением является присутствие в периферической крови крупных клеток с круглым или почкообразным ядром, которые причисляют к эндотелиальным клеткам или к моноцитам. Они обладают способностью фагоцитоза (макрофаги), и в некоторых из них удается обнаружить остатки других форменных элементов крови: эритроцитов или лимфоцитов, или нейтрофилов. При других заболеваниях эти клетки встречаются очень редко. Чтобы обнаружить их на мазке при эндокардите, лучше брать кровь из мочки уха, предварительно раздражив кожу трением.

м) Лимфогрануломатоз. Это заболевание не имеет настолько характерной для него картины крови, чтобы можно было на ней основывать диагноз. Обычно по мере прогрессирования болезни развивается малокровие гипохромного типа. Лейкоцитоз встречается, по одним авторам, чаще в начальном периоде болезни, по другим — также и в дальнейшем; лейкоцитоз нейтрофильного характера. Эозинофилы не исчезают и даже увеличиваются в количестве.

н) Грипп. Неосложненный грипп характеризуется лейкопенией, появляющейся уже на 2—3-й день болезни и продолжающейся еще долго по окончании болезни (2—3 недели); иногда отмечается кратковременный постинфекционный лейкоцитоз. Имеется резкий сдвиг влево. Лейкопения обусловлена токсическим повреждением костного мозга, которое может быть выражено настолько сильно, что на осложнения (пневмония, плеврит), обычно вызывающие лейкоцитоз, гриппозный больной реагирует только кратковременным увеличением числа лейкоцитов, вновь переходящим в лейкопению.

о) Сепсис. В тяжелых случаях быстро развивается малокровие, обычно гипохромное. Лейкоцитоз может достигь больших цифр; количество нейтрофилов достигает 80—90%; левый сдвиг выражен резко — обнаруживаются миелоциты и иногда даже миелобласты, так что легко ошибочно поставить диагноз лейкемоидного заболевания; эозинофилы исчезают. В тяжелых, острых или очень затянувшихся случаях лейкоцитоз может смениться лейкопенией с относительным лимфоцитозом; появление лейкопении ухудшает прогноз (рис. 42).

п) Туберкулез. В ранних стадиях туберкулеза иногда встречается умеренное гипохромное малокровие; в других случаях со стороны красной крови нет никаких изменений. В дальнейшем на состояние крови влияет



столько разнообразных факторов, что даже при развитом процессе количество эритроцитов и гемоглобина может быть приблизительно нормальным. Причиной этого кажущегося отсутствия малокровия может быть сгущение крови вследствие потери жидкости и аноксемия.

Со стороны белой крови в легких случаях количество лейкоцитов мало или вовсе не увеличено, однако отмечается абсолютный лимфоцитоз. В тяжелых случаях или при наличии вторичной инфекции имеется нейтрофильный лейкоцитоз с левым сдвигом. По мере улучшения увеличивается количество лимфоцитов, а также эозинофилов. Количество моноцитов при ухудшении увеличивается, при улучшении — падает; отношение моноцитов и лимфоцитов может иметь прогностическую ценность. В норме оно соответствует приблизительно 1:3; увеличение коэффициента до 1:1 считается неблагоприятным, падение коэффициента — благоприятным признаком.

р) Малярия. Малокровие — в зависимости от тяжести и давности процесса. Часто наблюдается базофильная зернистость эритроцитов.

Количество лейкоцитов при *malaria tertiana* и *malaria quartana* вначале повышено, особенно во время приступа; в дальнейшем развивается лейкопения как между приступами, так и во время приступов. В начале приступа отмечается небольшое повышение, затем быстрое падение числа лейкоцитов. Левый сдвиг иногда выражен резко, в то же время токсических лейкоцитов мало. При хронических формах часто наблюдается относительный моноцитоз. Комбинация лихорадки, лейкопении и моноцитоза считается характерной для малярии.

При тропической форме малярии, особенно при тяжелых формах с явлениями комы, иногда наблюдается резкий лейкоцитоз. Малокровие тоже достигает значительной степени.

с) Аппендицит. При остром аппендиците красная кровь не изменяется сколько-нибудь закономерно, хотя иногда наблюдается падение количества гемоглобина и числа эритроцитов. Наоборот, изменения со стороны лейкоцитов имеются, притом настолько резкие, что несколько лет назад пытались класть их в основу правил о показаниях к операции или консервативному лечению. Необходимо помнить, однако, что все же в 4—5% случаев аппендицита таких изменений со стороны количества лейкоцитов и лейкоцитарной формулы, которые соответствовали бы клинической картине, вначале нет. Кроме того, гемограмма вообще, особенно в патологических случаях, отличается значительной неустойчивостью, поэтому какие-либо выводы можно делать только на основании повторных исследований. Для воспалительного процесса характерен умеренный лейкоцитоз (8 000—12 000 клеток) с увеличением содержания нейтрофилов до 80% и умеренным левым сдвигом. Незначительное последующее нарастание указывает на развитие процесса при наличии хорошей реакции со стороны больного. Такая же картина крови, но без дальнейшего нарастания может наблюдаться при улучшении процесса, на высоте которого имелся более резкий лейкоцитоз; в этом случае количество сегментоядерных клеток обычно больше и встречаются гиперсегментированные клетки. Острый процесс с хорошей реакцией со стороны организма может дать и до 20 000 лейкоцитов с 85% нейтрофилов. Если число лейкоцитов доходит до 70 000, в особенности если число нейтрофилов при подобном лейкоцитозе достигает 90%, то можно предполагать нагноение. Последующее уменьшение лейкоцитоза и числа нейтрофилов может означать в подобных случаях либо улучшение процесса, либо ослабление реакции со стороны организма. То же относится и к умеренному лейкоцитозу и нейтрофилии: падение при повторных исследованиях чаще служит



признаком улучшения, но может указывать и на ослабление реакции организма.

Отсутствие левого сдвига делает диагноз аппендицита сомнительным. Левый сдвиг до 20% наблюдается при умеренном воспалительном процессе. Более тяжелые процессы дают более 20% незрелых нейтрофильных клеток.

## ПУНКЦИЯ КОСТНОГО МОЗГА

Изучение клеточного состава костного мозга представляет при некоторых заболеваниях не только теоретический интерес, но может иметь и диагностическое значение. Техника пункции не сложна, хотя и требует строгой асептики, и вполне применима и у детей. Все же в наши клинические лаборатории это исследование пока внедряется очень медленно, хотя именно советским авторам принадлежит большая заслуга в разработке этого раздела гематологии. Ниже приведена вкратце техника пункции, рекомендованная Аринкиным.

Для прокола передней стенки грудины требуется рекордовский шприц с хорошо пригнутой иглой такого типа, как для люмбальной пункции. Удобно иметь на ней муфточку, которую можно перемещать и укреплять на том месте, до которого должна быть введена игла. Диаметр иглы 1—1,5 мм. Кончик должен быть срезан под тупым углом. В момент вкола в игле должен находиться мандрен. Проф. Кассирским предложена очень удобная игла со щитком.

Прокол делают с соблюдением всех правил асептики. Применяют обезболивание кокаином с адреналином (кожа, подкожная клетчатка и надкостница). Иглу вкалывают в рукоятку грудины. Если рукоятка узкая, как это обычно бывает у астеников, то вкол делают по средней линии; при широкой рукоятке лучше отступить от этой линии на 0,5—1,0 см. На иглу надо оказывать довольно сильное давление, после чего сразу получается ощущение, что передняя стенка проколота и игла упирается в заднюю. Кончик иглы в это время находится в губчатом слое кости. Удаляют мандрен, присоединяют шприц и производят насасывание; можно получить таким путем около 10 см<sup>3</sup> костномозгового вещества. Однако в этом не только нет надобности, наоборот, взятие большого количества материала вредно отражается на результатах исследования. Большое количество жидкости возможно только за счет присасываемой крови, которая разбавляет костномозговое вещество; поэтому чем больше взято материала, тем ближе клеточный состав к составу крови. Желательно производить подсчет в самой первой капле крови и насасывать в шприц не более 0,1 см<sup>3</sup>. Полученную массу выталкивают из шприца на часовое стекло, отсасывают жидкую кровь фильтровальной бумагой; влажные кусочки ткани растирают стеклянной палочкой, насасывают растертую массу в смеситель для

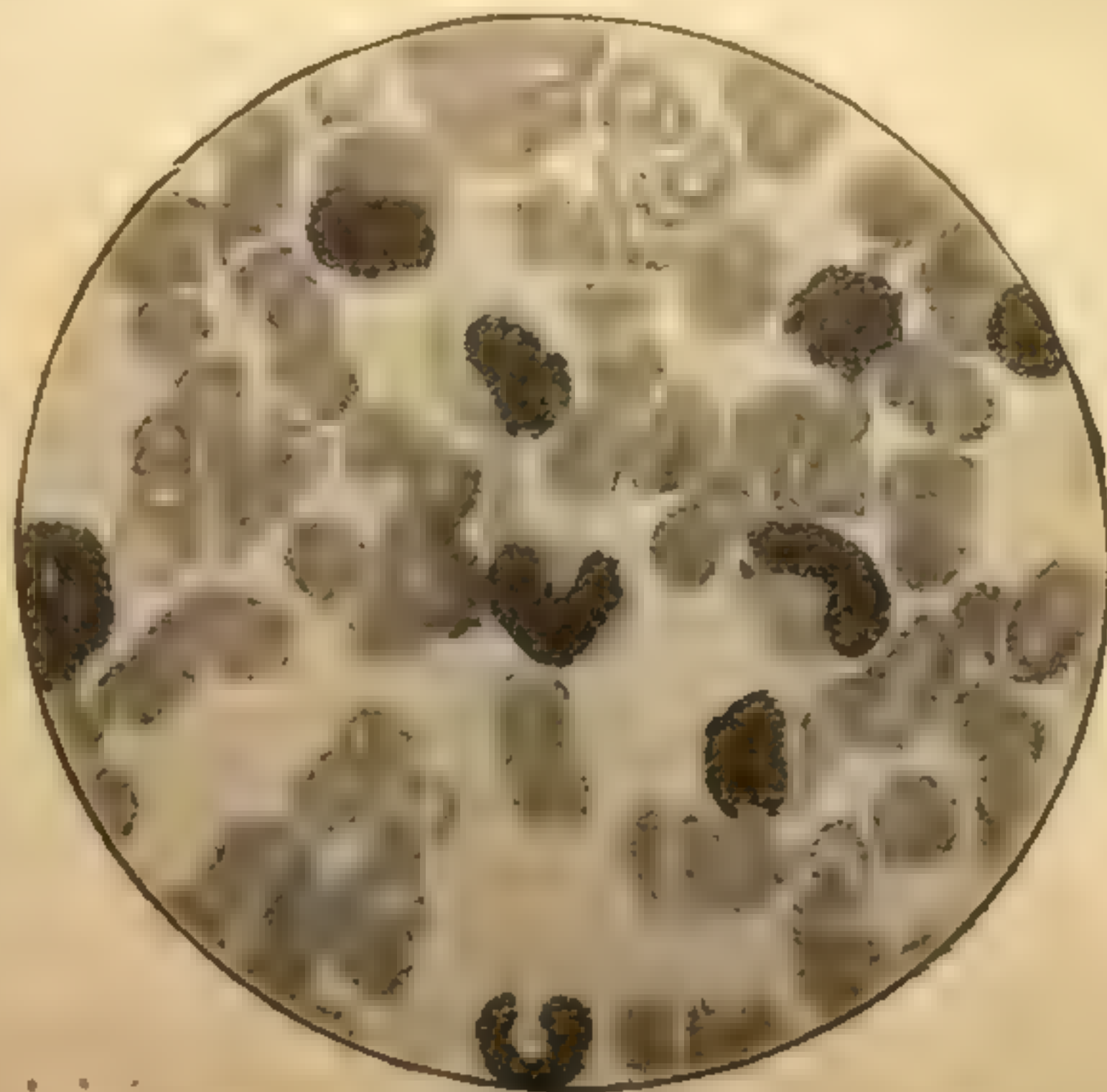


Рис. 43. Клетки нормального костного мозга.



лейкоцитов до метки 0,5 и набирают до метки 11 разводящую жидкость (см. «Морфологическое исследование крови» — «Разводящие жидкости»). Сильно встряхивают смеситель до получения гомогенной взвеси; поскольку ткань костного мозга очень рыхлая, это обычно удается без большого труда. После этого производят подсчет в камере. Если в шприце оказалась только красноватая мутная жидкость без видимых кусочков ткани, то можно ею пользоваться для подсчета. Общее количество ядерных элементов при тщательном соблюдении указанных условий подсчета все же колеблется в больших пределах, повидимому, вследствие неодинаковых свойств костномозговой ткани в различных участках; у здоровых находили от 45 000 до 150 000 в 1 мм<sup>3</sup> костномозгового вещества. Величины, выходящие за эти пределы, особенно если они подтверждены повторным исследованием, можно считать патологическими.

Не все авторы, занимающиеся исследованием состава костного мозга, считают необходимым подсчет форменных элементов в камере. Большинство ограничивается подсчетом процентных отношений различных форм ядерных клеток в мазке из пунктата на стекле.

Нормальный клеточный состав костного мозга представлен в табл. 1 (в %) (рис. 43).

Таблица 1

	Аринкин	Алексеев
Миэлобласты . . . . .	1—1,4	0,25—6,4
Метамиелобласты (лейкобласты) . . . . .	—	0—0,1
Промиелоциты: нейтрофильные . . . . .	—	0,5—8,0
эозинофильные . . . . .	0,8—1,4	0—0,5
базофильные . . . . .	—	0—0,01
Миелоциты: нейтрофильные . . . . .	4,2—10,0	4,5—16,8
эозинофильные . . . . .	0,4—2,2	0,5—4,0
базофильные . . . . .	—	0—1,5
Метамиелоциты: нейтрофильные . . . . .	1,6—5,0	9,0—21,6
эозинофильные . . . . .	0—0,3	0,3—4,0
базофильные . . . . .	—	0—0,1
Палочкоядерные: нейтрофильные . . . . .	—	14,0—33,0
эозинофильные . . . . .	40,0—51,0	0,5—3,2
базофильные . . . . .	—	0—0,1
Сегментоядерные: нейтрофильные . . . . .	—	13,0—27,0
эозинофильные . . . . .	0,5—0,8	1,0—3,77
базофильные . . . . .	0—0,6	0—0,25
Лимфоциты . . . . .	10,0—13,0	1,2—11,5
Моноциты . . . . .	1,8—4,0	0,25—3,0
Плазматические клетки . . . . .	0,4—1,0	0,1—1,0
Ретикуло-эндотелиальные клетки . . . . .	3,5—12,2	0,1—1,0
Мегакариоциты . . . . .	0,8—1,6	0,01—0,2
Проэритробласты . . . . .	0—1,6	0,5—6,0
Нормобласты . . . . .	11,2—14,2	16,0—32,5

## ГЛАВА ВТОРАЯ

# ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ НА НАЛИЧИЕ ПРОСТЕЙШИХ И СПИРОХЕТ

## А. ПРОСТЕЙШИЕ (Protozoa)

К простейшим принадлежат микроскопически мелкие животные, тело которых состоит из одной клетки. Большинство простейших — свободно живущие животные, и лишь немногие ведут паразитический образ жизни в теле других животных и человека. Простейшие делятся на четыре класса:



1. Flagellata — жгутиковые — передвигаются при помощи длинных жгутов.

2. Rhizopoda — корненожки — передвигаются при помощи псевдоподий (протоплазматических выростов).

3. Sporozoa — споровики, паразиты клеток и тканей; на различных этапах жизненного цикла наблюдаются разные способы передвижения.

4. Infusoria s. Ciliata — ресничные — передвигаются при помощи ресничек.

В крови человека из простейших встречаются представители споровиков и жгутиковых.

### 1. Плазмодии малярии

Плазмодий малярии принадлежит к классу споровиков (семейству Plasmodiidae). Он был впервые открыт Лавераном в 1880 г.

1) Цикл развития. Исследованиями многочисленных авторов установлен тот факт, что паразит болотной лихорадки совершает два цикла развития: бесполой, или эндогенный, который происходит в крови человека, и половой, или экзогенный, который происходит вне крови человека, в организме комара. Бесполой цикл развития в человеческой крови обозначается как шизогония (Schizogonia), а половой — как спорогония (Sporogonia).

Шизогония. Паразит попадает в кровь человека со слюной комара (при укусах) в виде серповидных образований — спорозоитов. В дальнейшем паразиты внедряются в эритроциты и сначала принимают круглую или овальную форму. Затем в протоплазме появляется вакуоль, и паразит приобретает сходство с кольцом. Постепенно увеличиваясь в размерах, он начинает образовывать псевдоподии и принимает амебовидную форму. Эти формы носят название шизонтов. Когда паразит вырастает до размеров эритроцита, в котором он находится, он готовится к делению. По мере роста в теле шизонта отлагается пигмент, образующийся из остатков гемоглобина, использованного плазмодием. Пигмент этот раньше считали тождественным с меланином; в настоящее время установлено, что он по химическому строению близок к гематину. Взрослый шизонт в дальнейшем делится на новое поколение паразитов. Формы, образующиеся в результате деления шизонта, называются мерозоитами. Мерозоиты проникают в свежие эритроциты. Из части мерозоитов вновь образуются бесполое формы — шизонты, а из другой части образуются половые формы — гамонты. Различают мужские и женские гамонты.

Мужские гамонты имеют большое рыхлое ядро и слабо окрашенную протоплазму, женские — небольшое компактное ядро и интенсивно окрашенную протоплазму.

Дальнейшее развитие гамонтов совершается в теле комара. Взгляд, согласно которому некоторые женские гамонты без предшествующего оплодотворения способны дать бесполое поколение — мерозоитов — и тем обусловить рецидив болезни, в настоящее время надо считать опровергнутым.

Половой цикл развития (спорогония), как сказано выше, совершается в теле комаров, принадлежащих к роду Anopheles. Благодаря обстоятельным работам многочисленных исследователей, процесс развития малярийного паразита в теле комара представляется в следующем виде. Самки комаров из рода Anopheles перед кладкой яиц сосут кровь теплокровных животных, которая необходима для созревания яиц. Если они насосутся крови больного человека, содержащей плазмодии болотной



лихорадки, то паразиты, способные к бесполому размножению, гибнут в желудке комара, а гамонты оплодотворяются там. Мужские особи выпускают из своего тела нити в виде бичей — микрогаметы; последние отделяются от тела микрогамонта, внедряются в протоплазму женских особей — макрогамет — и оплодотворяют их.

В результате слияния мужской и женской гамет образуется круглая клетка — зигота, или оокинета, которая через некоторое время вытягивается и приобретает способность к движению. Она двигается в содержимом желудка комара и проникает через эпителий желудка вплоть до *tunica elastico-muscularis*.

Если комар, напившись крови, содержащей гамонты, находится при температуре 24°, то зиготы образуются в его желудке, начиная с 2½—3 часов после насыщения им крови. Под наружной оболочкой желудка зигота останавливается и превращается в шаровидное пигментированное образование величиной с половину красного кровяного шарика; это — ооциста; она довольно быстро увеличивается в объеме. Количество ядер в ней увеличивается путем прямого деления, а вокруг каждого ядра обособляется протоплазма, в результате чего образуются серповидные зародыши — спорозоиты. В ходе дальнейшего развития ооциста лопается, спорозоиты освобождаются и расселяются в полостях тела комара. На 8-й или 9-й день от начала развития они уже находятся в слюнных железах комара и отсюда при сосании крови проникают в кровь человека.

По истечении инкубационного периода в эритроцитах обнаруживаются описанные выше стадии развития паразита, что обычно совпадает с началом острой фазы инфекции.

Таким образом, между заболеванием человека малярией и комарами из рода *Anopheles* существует тесная связь; последние служат переносчиками малярийного паразита от больного человека к здоровому.

Комары переживают зиму во взрослом (окрыленном) состоянии. Заразившиеся осенью, они весной, к моменту вылета с зимовок, как правило, теряют способность заражать. Паразиты обычно сохраняются в организме человека, и комары, вылетающие с зимовок стерильными, вновь заражаются и, таким образом, поддерживают эпидемию малярии. В исключительно редких случаях комары могут заражаться зимой, если они живут в теплых помещениях и имеют возможность в течение зимы пить кровь лиц, больных малярией.

Итак, паразит, открытый Лавераном, есть несомненный возбудитель малярии, попадающий в кровь человека при укусах комаров из рода *Anopheles*, насосавшихся малярийной крови. Следовательно, если в крови человека найден этот паразит, значит, налицо заражение малярией.

Если у больного имеется лихорадка (перемежающаяся или постоянная), вызванная малярийными паразитами, то при микроскопическом исследовании крови малярийные паразиты должны быть обязательно обнаружены, так как в подавляющем большинстве случаев начало подъема температуры при малярии совпадает с наличием паразитов в периферической крови в количестве, доступном для обнаружения обычными методами. Иногда паразиты в периферической крови появляются даже до начала приступов, и лишь в редких случаях количество их во время и после первого приступа бывает столь незначительным, что они при микроскопическом исследовании крови не обнаруживаются; однако повторное исследование крови в случае малярии всегда дает положительный результат.

В межрецидивном (бесприступном) периоде размножение паразитов активно подавляется макроорганизмом, в результате чего количество их в периферической крови резко уменьшается и они перестают обнаруживаться.



ваться при обычном микроскопическом исследовании крови. Но в это время паразиты все же находятся в периферической крови (в очень небольшом количестве), что доказывается случаями заражения малярией при переливании крови от лиц, находящихся в межрецидивном (бесприступном) периоде.

Для диагноза малярии иногда используется реакция связывания компонента, но она недостаточно изучена и в практической работе не применяется.

2) **Виды плазмодиев.** В настоящее время различают три главных вида плазмодиев: а) *Plasmodium vivax* — паразит трехдневной лихорадки; б) *Plasmodium malariae* — паразит четырехдневной лихорадки; в) *Plasmodium falciparum* (s. *Pl. praecox*, s. *Pl. immaculatum*) — паразит тропической лихорадки. В 1922 г. Стифенс (Stephens) описал 4-й вид — *Plasmodium ovale* — паразит лихорадки трехдневного типа.

а) *Plasmodium vivax* — паразит трехдневной лихорадки. Совершает полный цикл своего развития в крови человека в течение 48 часов. В начале своего развития он имеет вид яйцевидного комочка, на одном из полюсов которого при окраске по Романовскому ясно обнаруживается вишневокрасное ядро, отделенное от окрашенной в голубой цвет протоплазмы светлым ободком. Начинаящие иногда принимают кровяные пластинки, лежащие на эритроците, или вакуоли в эритроцитах за молодую форму паразитов. Чтобы избежать такого рода ошибок, следует помнить, что плазмодии содержат ядро, окрашивающееся в вишневокрасный цвет, и что протоплазма их голубого цвета (рис. 44 и 45).

В дальнейшем в теле паразита образуется вакуоль, вследствие чего он принимает кольцевидную форму, причем в одном месте кольцо представляется значительно утонченным; в этом утончении и обнаруживается ядро (характерная форма перстня). По мере роста паразита количество протоплазмы увеличивается и в ней начинает появляться желтоватобурый пигмент в виде очень мелких крупинок или палочек. Сам паразит уже не имеет формы кольца, а представляется в виде комочка с отростками самых причудливых очертаний.

Кровяной шарик, содержащий паразита, также увеличивается и постепенно делается беднее гемоглобином; часто в нем обнаруживается особая крапчатость — так называемая шюффнеровская зернистость в виде кирпичнокрасных зернышек. Зернистость проявляется при интенсивной окраске по Романовскому. Она представляет продукт дегенерации протоплазмы эритроцита под влиянием малярийного плазмодия. В дальнейшем паразит достигает такой величины, что занимает почти весь эритроцит; от последнего остается лишь очень узкий ободок протоплазмы, причем сам эритроцит к этому времени увеличивается почти в два раза против своего нормального размера.

Дальше паразит принимает вид комка более округленной формы. Количество пигмента весьма значительно; он разбросан по всей протоплазме паразита. Перед новым приступом лихорадки, приблизительно на 44-м часу развития, обнаруживаются ясные признаки деления паразита: пигмент начинает собираться в кучку, сам паразит делится на отдельные комочки числом от 12 до 18; это молодые паразиты-мерозоиты, из которых каждый состоит из протоплазмы и небольшого ядра; все образование имеет вид тутовой ягоды. Через 48 часов от начала развития паразит распадается, причем отдельные мерозоиты делаются свободными и сначала циркулируют в плазме крови, а затем внедряются в эритроциты и в них снова проделывают описанный цикл развития. Процесс распада паразита на мерозоиты носит название меруляции.



Описанные формы паразита трехдневной лихорадки наблюдаются в крови человека лишь в первое время заболевания. После нескольких приступов в крови появляются новые формы, которые не способны к размножению путем деления, а остаются в крови без изменения в виде сферических образований, окруженных тонким ободком — остатком эритроцита. Это так называемые гамонты — половые формы паразита, мужские и женские, о которых было сказано выше.

Женский гамонт на всем протяжении своего развития не имеет ни вакуоли, ни псевдоподий. В зрелом состоянии он занимает почти весь эритроцит, имеет круглую или овальную форму. Ядро небольшое, компактное, обычно расположенное эксцентрично. Протоплазма красится в интенсивный голубой цвет. Пигмент в виде зерен равномерно распределен во всей протоплазме.

Мужской гамонт также не имеет ни вакуолей, ни псевдоподий. Форма круглая или овальная, занимает почти весь эритроцит. Ядро большое, рыхлое, занимает примерно половину диаметра клетки, чаще лежит в центре. Протоплазма окрашивается в бледнофиолетовый цвет. Пигмент равномерно распределен по протоплазме.

Наблюдения показали, что с периодом распада паразита на мерозоиты как раз совпадает приступ лихорадки, и так как распад этот правильно повторяется через каждые 48 часов, то этим объясняется клиническая картина правильной трехдневной лихорадки.

б) *Plasmodium malariae* (рис. 46) — паразит четырехдневной лихорадки. Проходит те же самые стадии развития, что и паразит трехдневной лихорадки, с тем отличием, что эти стадии протекают медленнее: полный цикл развития паразита в крови человека совершается в течение 72 часов, почему и лихорадка, обусловленная этим паразитом, имеет четырехдневный тип. В морфологическом отношении паразит четырехдневной лихорадки представляет следующие особенности: он меньше паразита трехдневной лихорадки, и эритроцит в котором находится этот паразит, никогда не увеличивается в объеме и не обесцвечивается. Азурофильная зернистость обнаруживается в протоплазме инфицированного эритроцита лишь с большим трудом. Зернистость эта мельче шюфферовской и не так интенсивно окрашена; она носит название зернистости Цимана. Кольца *Pl. malariae* такие же, как и у *Pl. vivax*.

Шизонты бывают двух типов: 1) амебовидные, в зависимости от возраста более или менее крупные; форма амебовидных шизонтов *Pl. malariae* по сравнению с таковыми *Pl. vivax* более правильная, псевдоподии короткие и широкие; 2) лентовидные — паразит вытянут поперек эритроцита. Чем моложе шизонт, тем тоньше лента; взрослые представляются в виде широкой ленты, ядро вытянуто вдоль ленты, а пигмент рассеян по противоположной от ядра стороне. При меруляции *Pl. malariae* образуют обычно 6—12 (чаще 8—10) мерозоитов, расположенных друг возле друга и вокруг собранного в одну кучку центрально расположенного пигмента (характерная форма маргаритки).

Гамонты *Pl. malariae*, так же как гамонты *Pl. vivax*, представляют собой округлые образования. От взрослых шизонтов они отличаются округлой формой и большим содержанием пигмента, от гамонтов паразита трехдневной лихорадки — меньшей величиной; гамонты паразита четырехдневной лихорадки никогда не превосходят размерами нормальных эритроцитов.

в) *Plasmodium falciparum* (рис. 47) — паразит тропической лихорадки. Отличается от двух предшествующих видов тем, что шизогония и начало развития гамонтов происходят в капиллярах внутренних органов, а в периферическую кровь попадают только кольца и



вполне созревшие гамонты. Различные стадии развития шизонтов и меруляции в случаях тропической малярии средней тяжести в периферической крови не встречаются.

*P. falciparum* представляет собой мелкие кольца — около  $\frac{1}{6}$  —  $\frac{1}{5}$  диаметра красного кровяного шарика. Они очень тонки, резко очерчены; нередко несколько колец находится в одном и том же красном кровяном шарике. У кольца в одном месте обнаруживается утончение, где помещается ядро паразита.

Ядро иногда бывает образовано 2—3 хроматиновыми зернами. В протоплазме пораженных эритроцитов наблюдаются изменения: появляется несколько крупных пятен неправильной формы, окрашивающихся по Романовскому в пурпурно-красный цвет. Эта так называемая «мауреровская пятнистость» отличается от шюфферовской зернистости тем, что пятен очень немного (их можно сосчитать), они большей величины и неправильной формы. Кроме того, эта пятнистость выявляется лишь в препаратах, сильно перекрашенных при щелочной реакции.

Шизонты *P. falciparum* попадают в периферическое русло крови лишь при коматозном состоянии. Они обладают одной характерной особенностью: пигмент в протоплазме бывает собран в одну компактную глыбку задолго до начала деления ядра.

При меруляции образуется 12—24 мелких мерозонта, собранных в беспорядке вокруг кучки пигмента. Продолжительность шизогонии *P. falciparum* равна 48 часам.

Гамонты *P. falciparum*, как указывалось выше, образуются в капиллярах внутренних органов, а в периферическом русле крови они появляются спустя несколько дней от начала заболевания и циркулируют в зрелом состоянии. Гамонты имеют полулунную форму тела с закругленными концами; в середине тела находится ядро и зерна пигмента.

У женских гамонтов ядро компактное, окружено венчиком из зерен пигмента; протоплазма окрашивается по Романовскому в темноголубой цвет. В мужских гамонтах ядро значительно крупнее, пигмент распределен в средней трети, протоплазма окрашена в светлоголубой цвет. Изредка встречаются гамонты круглые и овальные — это молодые формы.

Гамонты лежат свободно между форменными элементами крови, иногда заключены в красном кровяном шарике, от которого остаются лишь контуры, лучше всего заметные в виде бледно окрашенной полоски, протянутой над вогнутостью гамонта. Эритроциты, пораженные *P. falciparum*, не изменяются.

Паразит тропической лихорадки обуславливает собой злокачественную лихорадку жарких стран — Туркестана, Кавказа, Италии и др.; при этом наблюдаются различные клинические формы: *continua*, *remittens*, *irregularis* и пр.

Паразиты трех- и четырехдневной лихорадки также не всегда вызывают правильно повторяющиеся приступы. Паразит трехдневной лихорадки часто вызывает ежедневные приступы или неправильно чередующиеся. Это объясняется тем, что в организме человека в начале острой фазы инфекции деление (меруляция) малярийных паразитов происходит не одновременно. Как известно, подъем температуры при малярии обуславливается делением массивной группы паразитов, и если в организме паразиты группируются в несколько партий, то деление каждой партии будет сопровождаться подъемом температуры и тем самым давать неправильно чередующиеся приступы при разных формах малярии. Это обстоятельство подтверждено многочисленными наблюдениями над течением естественной и экспериментальной малярии при однократном зараже-



нии, и поэтому объяснение ежедневных приступов при трехдневной малярии повторным заражением давно отвергнуто.

В местностях, сильно пораженных малярией, может наблюдаться одновременно заражение двумя и даже тремя видами плазмодиев. Такая инфекция дает ежедневные приступы или лихорадку неправильного типа.

г) *Plasmodium ovale*. Цикл развития происходит в эритроцитах периферического русла крови и продолжается 48 часов. Кольца круглые, занимают  $\frac{1}{3}$  диаметра эритроцита. У шизонтов слабо выражена амебовидность. При меруляции образуется 6—12 крупных мерозоитов. *P. ovale* вызывает резкое изменение эритроцитов. Пораженные эритроциты увеличиваются в размерах, многие из них принимают овальную форму, и в протоплазме эритроцитов, содержащих паразиты, при окраске по Романовскому хорошо выявляется зернистость крупная и менее обильная, чем шюфферовская зернистость, называемая зернистостью Джемса.

Схематически сказанное представлено в табл. 2 и 3.

3) **Исследование плазмодиев в толстой капле.** Кровь для исследования на малярию можно брать вне зависимости от приступа, так как паразиты малярии во время острой фазы инфекции (серия приступов) имеются в эритроцитах периферического русла крови как во время приступа, так и в межприступном периоде.

Кровь берут обычным способом из мякоти пальца. Предметные стекла должны быть тщательно вымыты.

Кроме мазков, техника приготовления которых описана выше (см. «Морфологическое исследование крови»), при исследовании на присутствие плазмодиев малярии необходимо брать еще так называемую толстую каплю. Она дает возможность исследовать кровь в более толстом слое, что намного сокращает время исследования и облегчает нахождение паразитов там, где их мало; поэтому взятие толстой капли должно практиковаться во всех случаях.

Приготовление толстой капли крайне просто и сводится к следующему: к капле крови, выступившей из укола, осторожно прикасаются поверхностью предметного стекла, после чего легким круговым движением распределяют кровь на большей поверхности, для того чтобы слой крови не был чересчур толстым. Можно также размазать кровь углом другого стекла. Очень толстые капли не годятся, так как после высыхания растрескиваются и отскакивают от стекла. Обычно на одно стекло берут 2—3 капли на некотором расстоянии одну от другой. Взятые таким образом капли должны быть отмечены. Надпись делается восковым карандашом или приклеивается бумажная этикетка. Это не всегда бывает удобно, так как надпись восковым карандашом при складывании стекол вместе может отпечататься на рядом лежащих стеклах или стереться, а бумажная этикетка может отклеиться. Этих недостатков можно избежать, готовя толстые капли следующим образом: на предметном стекле готовится мазок, и пока он еще влажен, им прикасаются к выступившей капле крови на месте укола. Кровь на влажном мазке растекается правильным кругом, что исключает необходимость размазывания толстой капли, а на высохшей части мазка можно сделать надпись простым (не химическим!) карандашом, которая выступает отчетливо и после окраски капли.

Каплям дают высохнуть на воздухе без подогревания в горизонтальном положении, на что требуется около получаса.

В отличие от мазка толстую каплю перед окраской не надо фиксировать, что очень важно помнить и что начинающие нередко забывают. Капли, на которые случайно попал спирт, тем самым уже фикси-



Таблица 2

## Дифференциальная диагностика малярийных паразитов человека (по Мошковскому)

Возбудитель	<i>Pl. vivax</i>	<i>Pl. malariae</i>	<i>Pl. falciparum</i>	<i>Pl. ovale</i>
Клиническая картина инфекции	<i>Malaria tertiana</i>	<i>Malaria quartana</i>	<i>Malaria tropica</i>	<i>Malaria tertiana</i>
Продолжительность шизогонии	48 часов	72 часа	48 часов	48 часов
Стадии развития паразитов в периферической крови	Все стадии шизогонии и гаметоциты	Все стадии шизогонии и гаметоциты	Обычно только кольца и зрелые гаметоциты. В коматозных случаях шизонты различных возрастов и морула	Все стадии шизогонии и гаметоциты
Молодые шизонты	Правильной кольцевидной формы, занимают $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$ диаметра эритроцита	Такие же, как у <i>Pl. vivax</i>	Мелкие кольца занимают $\frac{1}{6}$ диаметра эритроцита, более крупные — до $\frac{1}{3}$ диаметра эритроцита, часто с двумя ядрами	Такой же величины и формы, как у <i>Pl. vivax</i> и <i>Pl. malariae</i> , но с более крупным ядром
Амебовидные шизонты	Занимают больше $\frac{1}{3}$ диаметра эритроцита. Псевдоподии хорошо выражены. Пигмент, распределенный в молодых шизонтах равномерно, по мере созревания паразита все более и более скупивается	а) Такие же, как у <i>Pl. vivax</i> , различной величины, в зависимости от зрелости шизонта. Псевдоподии нерезко выражены, широкие. б) Лентовидные шизонты — паразит вытянут поперек эритроцита в виде более или менее широкой ленты. Ядро вытянуто вдоль одного края. Пигмент в амебовидных шизонтах распределен так же, как в амебовидных шизонтах <i>Pl. vivax</i> . В лентовидных шизонтах пигмент расположен вдоль одного края, противоположного тому, на котором находится ядро	Слабо выраженная амебовидность. Уже на ранних стадиях пигмент собран в кучку. Обычно в периферической крови не встречаются	Похожи на шизонты <i>Pl. malariae</i> , но имеют более крупные размеры. Распределение пигмента такое же, как в амебовидных шизонтах <i>Pl. vivax</i> и <i>Pl. malariae</i>
Морула	12—18 мерозонтов расположены беспорядочно вокруг компактной кучки пигмента	8, реже до 12 мерозонтов располагаются правильной розеткой по периферии собранного в кучку пигмента	12—24, обычно около 16 более мелких, чем у других форм мерозонтов, расположены беспорядочно вокруг собранного в кучку пигмента	8 мерозонтов расположены беспорядочно вокруг собранного в кучку пигмента
Гаметоциты	Круглая или овальная клетка без псевдоподий, без вакуолей занимает почти весь эритроцит, увеличенный в размерах. Пигмент более грубый, чем в шизонтах, распределен равномерно	Такие же, как у <i>Pl. vivax</i> , но меньшей величины (не больше нормального эритроцита)	Полулунной формы. В женских гаметоцитах пигмент тесно прилегает к ядру, находящемуся в центре паразита. В мужских — пигмент распространяется далеко за пределы ядра, занимающего более половины длинника гаметоцита	Такие же, как у <i>Pl. vivax</i> . Пигмент распределен так же, как в гаметоцитах <i>Pl. vivax</i> и <i>Pl. malariae</i>



## Изменения эритроцитов, пораженных малярийными паразитами (по Мошковскому)

Таблица 3

Вид паразита	Эритроциты		Азурофильные элементы					
	изменение формы	увеличение	изменение окраски	на какой стадии развития паразита в эритроцитах появляются азурофильные элементы	форма азурофильных элементов	количество азурофильных элементов	способ обнаружения	обозначение
<i>Pl. vivax</i>	Непостоянно	Значительно увеличиваются	Выраженное обесцвечивание	Молодые шизонты	Точки	Обильное	Окраска по Романовскому, pH около 7,5	Зернистость Шюффнера
<i>Pl. malariae</i>	Не наблюдается	Не увеличиваются	Обесцвечивание едва намечается	Молодые шизонты	Мелкие пылинки	Меньше, чем при <i>Pl. vivax</i>	Окрашиваются с трудом при соблюдении специальных условий	Зернистость Цимана
<i>Pl. falciparum</i> : а) агамонты (бесполовые формы)	Не наблюдается	Не увеличиваются	В свежем виде эритроциты имеют медно-красный оттенок	Кольца	Пятнышки	Единичные	Окраска по Романовскому при значительном содержании азур-а и при pH не ниже 7,5	Пятнистость Маурера
б) гамонты (половые формы — гаметоциты)	Строма эритроцита туго натянута на взрослых гаметоцитах, только на вогнутой стороне гаметоцита иногда удается уловить остатки эритроцита		При окраске по Романовскому весь эритроцит иногда принимает слабый вишневый оттенок	Зрелые гамонты	Спирохето-подобные фигуры. Крупные зерна	Одна фигура. Несколько зерен		Фигуры Гари-хема. Зерна Аргутинского
<i>Pl. ovale</i>	Многие (около 25%) эритроциты, содержащие взрослые шизонты, вытянуты и имеют овальную форму. Многие имеют неправильную форму	Увеличение в меньшей степени, чем при <i>Pl. vivax</i>	Весьма резкое обесцвечивание	Молодые кольца	Точки	Обильное	В тех же условиях, что и зернистость Шюффнера, выявляется более энергично	Зернистость Джемса

ро- на те ст в су ш хо в то ра ду не зре ни что ле пар чем кол не тип маз ным кро кот окр сим кол пит нево Пар в ро мент Рова Мош в ла 1 — 1 пово чае то живе шейс (рас доват 5 Рув



рованы и не годятся для исследования. После высыхания капли на нее наливают краску Романовского, разведенную, как обычно. Продолжительность окраски зависит от качества краски; в среднем она составляет 30—45 минут. Окрашенную каплю осторожно ополаскивают водопроводной водой (сильная струя воды может смыть каплю) и просушивают в вертикальном положении. Фильтровальной бумагой ее обсушивать нельзя. При окраске капель в водных растворах красок происходит выщелачивание гемоглобина из эритроцитов, вследствие чего в окрашенной капле эритроциты уже не видны. Из форменных элементов сохраняются лейкоциты и тромбоциты.

Морфология паразита в толстой капле не так ясна, как в мазке. Для распознавания отдельных видов паразитов можно руководствоваться следующим.

*Pl. vivax* отличаются от других паразитов своей относительно большей величиной и полиморфизмом. Обычно, наряду с кольцами, видны и зрелые формы шизонтов, а нередко одновременно с ними формы деления и гамонты. Часть пораженных эритроцитов обычно сохраняется, так что, наряду со свободно лежащими паразитами, видны также паразиты, лежащие в эритроцитах.

*Pl. malariae*. Отличить паразитов четырехдневной лихорадки от паразитов трехдневной лихорадки в толстой капле значительно труднее, чем в мазке. Отличительные признаки указаны в табл. 3.

*Pl. falciparum*. В капле обнаруживается большое количество мелких колец. Исключительное нахождение колец должно возбуждать подозрение на данный тип паразита. Кольца лежат свободно. Иногда находят типичные гамонты (полулуния).

Во всех сомнительных случаях необходимо тщательное исследование мазков.

**4) Исследование в мазках.** Мазки фиксируют и окрашивают обычным способом, несколько дольше, чем для морфологического исследования крови.

При окраске по Романовскому в паразите можно различить ядро, которое окрашивается в вишневокрасный цвет, и протоплазму, которая окрашивается в голубой цвет и представляется в разных формах, в зависимости от стадии развития паразита (форма комочка с отростками, кольца и т. п.). В протоплазме взрослых паразитов, кроме того, виден пигмент, то разбросанный в виде мелких зерен или палочек темнокоричневого цвета, то собранный в более крупные комочки чернобурого цвета. Паразит обычно (см. выше) находится в красном шарике, окрашенном в розовый цвет; иногда же он свободно лежит между форменными элементами крови.

**5) Специальные способы окраски.** Кроме классического способа Романовского, применяется окраска по методу Щуренковой и по методу Мошковского. Эти методы приобретают особую ценность при отсутствии в лаборатории краски Романовского.

а) **Способ Щуренковой.** Готовятся два раствора: раствор 1 — метиленовой синьки 1 г, кипяченой воды 75 см<sup>3</sup>; раствор 2 — марганцовокислого калия 1,5 г, кипяченой воды 75 см<sup>3</sup>.

Раствор 2 сливают в колбу вместе с раствором 1; при этом получается осадок. Колбу помещают в кипящую водяную баню и выдерживают в ней 20 минут, считая от повторного закипания воды, охладившейся от погружения в нее колбы. После остывания раствор фильтруют (раствор А). Окрашивание толстых капель и мазков производится последовательно в двух рабочих растворах — 1 и 2.



Приготовление рабочих растворов. Раствор 1: раствора А — 1 часть, подкисленной кипяченой воды — 2 части. Подкисленная вода готовится путем добавления к кипяченой воде 15 капель *Ac. hydrochloricum dilutum* (1 часть концентрированной  $\text{HCl}$ , 2 части дистиллированной воды) на 200  $\text{cm}^3$  воды.

Раствор 2: эозина водорастворимого 0,2 г, воды кипяченой 200  $\text{cm}^3$ .

Окраска мазков. Фиксированный обычным способом мазок погружают (бахромкой вниз) в раствор 2 на 15—20 секунд, затем прополаскивают водой и погружают в раствор 1 на 45—50 секунд, снова прополаскивают водой, просушивают и просматривают под микроскопом. Хорошо окрашенный мазок должен иметь сиреневый цвет. Если он слишком красный, это значит, что он перекрашен в растворе эозина; для его исправления следует еще на несколько секунд погрузить в раствор 1. Слишком синие мазки исправляются погружением вторично в раствор 2.

Окраска толстой капли. Не слишком толстую, хорошо размазанную и высушенную на воздухе каплю погружают (без фиксации) на 15—20 секунд в раствор 1, причем препарат лучше слегка шевелить (поднимать и опускать), чтобы обеспечить более быстрое отхождение гемоглобина. Когда капля из зеленой станет прозрачно-голубой, препарат прополаскивают в воде, опускают в раствор 2 и сразу же снова прополаскивают водой. После этого каплю высушивают (не на пламени) и микроскопируют.

Если капля слишком толстая и гемоглобин из нее отходит с трудом, то после 20-секундного окрашивания в растворе 1 надо промывать ее в воде, пока не отойдет гемоглобин, а затем возобновить окрашивание в том же порядке, как обычно. Предварительное извлечение гемоглобина до окрашивания в растворе 1 не рекомендуется, так как вымачивание капли значительно удлиняет время ее окраски. В правильно окрашенных препаратах ядра лейкоцитов фиолетовые, хорошо выявлена зернистость в лейкоцитах. Протоплазма паразитов голубая, ядро вишневокрасное, более интенсивно окрашенное у молодых особей.

б) Способ Мошковского. При отсутствии в лаборатории краски азура и эозина окраску мазков и толстых капель можно производить по способу Мошковского. Для этого требуется: метиленовой синьки 1 г, буры 2,5 г, дистиллированной воды 100  $\text{cm}^3$ . Метиленовую синьку и буру смешивают в ступке и затем растворяют в воде; раствор кипятят в течение 30 минут. Для окраски препаратов из основного раствора готовится рабочий раствор 1:10 на дистиллированной воде (раствор 1).

Раствор 2 представляет собой 5% раствор таннина (чтобы раствор таннина не загнивал, к нему прибавляют небольшое количество тимола).

Тонкие мазки, фиксированные, высушенные на воздухе, погружают в раствор 1 на 30 секунд — 1 минуту. Затем их ополаскивают в дистиллированной воде и погружают в раствор 2 на 5 секунд, снова ополаскивают в воде, высушивают на воздухе и исследуют.

При этом способе окраски эритроциты окрашиваются в розовый цвет, ядра лейкоцитов — в фиолетовый, плазма паразитов — в голубой, ядра паразитов у молодых стадий — в красный, у более взрослых — в бледно-розовый цвет.

Толстая капля. Хорошо размазанную, высушенную на воздухе толстую каплю (она не должна быть слишком толстой) погружают в раствор 1 на 10 минут. Препарат промывают в дистиллированной воде, погружают в раствор 2 на 8—10 секунд, снова промывают в воде, высушивают на воздухе и исследуют.



Если капля недостаточно хорошо выщелачивается, рекомендуется производить окрашивание таким образом: препарат погружают в раствор 1 на 3—5 минут, промывают в дистиллированной воде, снова погружают в раствор 1 на 5—7 минут, промывают в воде, погружают в раствор 2 на 8—10 секунд, промывают в воде, высушивают на воздухе и исследуют.

В окрашенных этим способом толстых каплях ядра лейкоцитов фиолетово-синие, плазма паразитов синяя, ядра у молодых стадий паразитов темнокрасные, у более взрослых — бледнорозовые.

6) Реакция меланофлокуляции при малярии (реакция Анри). Предложенная Анри в 1927 г. реакция меланофлокуляции рассматривалась им как специфическая реакция иммунитета. Взгляд на нее как на реакцию иммунитета в настоящее время никем не разделяется; в основе ее лежит повышенная лабильность глобулинов сыворотки. Тем не менее реакция все же имеет определенное диагностическое значение, хотя она и неспецифична.

Положительный результат реакции наблюдается при проявлениях малярийной инфекции во время приступов и остается положительным в течение нескольких недель по прекращении приступов, когда уже не находят плазмодиев. Таким образом, реакция дает возможность ретроспективно подтвердить диагноз. Для дифференциального диагноза она не является решающей (Тареев). У здоровых реакция всегда отрицательна.

Принцип реакции. При прибавлении экстракта из сетчатки глаза к сыворотке крови малярика в последней получается флокуляция, видимая простым глазом.

Техника реакции по Муфель и Андреевой. Кровь берут натошак. Ставя реакцию, пользуются сыворотками, постоявшими 12—24 часа, но не дольше; сыворотки не инактивируют.

Антиген. Антиген готовят из сетчатки бычьего глаза. Бычьи глаза, взятые в день убоя, после разреза роговицы тщательно промывают, чтобы отмыть хрусталик, стекловидное тело и радужную оболочку во избежание желатинизации массы. Промытую сетчатку извлекают, сильно измельчают, перетирают в ступке с небольшим количеством речного песка, предварительно многократным прокаливанием и промыванием освобожденного от органических веществ и извести. К хорошо растертой равномерной массе добавляют двойное количество дистиллированной воды с формалином (формалина в пропорции 1:200 к общему объему жидкости). Смесь выдерживают на льду 24—28 часов, после чего центрифугируют 8 минут при 4000 оборотов. Полученную мутноватую желтую жидкость разливают по ампулам, прибавляя для консервирования 1—2 капли хлороформа на 5 см<sup>3</sup> жидкости. Обработанный таким способом препарат оставляют для созревания в течение 2—3 недель в холодильнике при ежедневном встряхивании. Антиген стоек. Желательно проверить активность антигена на сыворотке заведомого малярика и установить его титр.

Реактивы: 1) дистиллированная вода, подщелоченная прибавлением 0,25 см<sup>3</sup> п/100 едкого натра на 100 см<sup>3</sup> воды; 2) 0,3% раствор хлористого натрия, также подщелоченный прибавлением 0,25 см<sup>3</sup> п/100 едкого натра на 100 см<sup>3</sup> раствора; 3) водный раствор формалина 1:2000 [продажный формалин разводят дистиллированной водой в 200 раз; раствор 1:2000 получают, смешивая 1 часть разведения 1:200 с 9 частями подщелоченной дистиллированной воды (1)]; 4) солевой раствор формалина 1:2000; 0,3 г хлористого натрия (химически чистого) растворяют в 100 см<sup>3</sup> подщелоченного раствора формалина (3). Раствор формалина 1:200 годен 2 недели. Раствор формалина 1:2000 нужно готовить *ex tempore* (годен один день).



Реакцию ставят с тремя разведениями антигена: 1) разведение 1:10 на дистиллированной воде, прокипяченной и подщелоченной, — меланин А; 2) разведение 1:15 на такой же воде — меланин В; 3) разведение 1:10 на 0,3% подщелоченном растворе хлористого натрия — меланин А<sub>1</sub>.

Параллельно ставят две контрольные пробирки; в первую вместо антигена приливают подщелоченную формалиновую воду (3), во вторую — 0,3% раствор хлористого натрия, приготовленный на подщелоченной формалиновой воде (табл. 4).

Таблица 4

Схема реакции (по Муфель и Андреевой)

Ингредиент	Номера пробирок				
	контроль		опыт		
	1	2	3	4	5
Сыворотка (неинaktivированная) . . .	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Подщелоченная дистиллированная вода . . . . .	0,5	—	—	—	—
Подщелоченный солевой раствор 3:1 000 . . . . .	—	0,5	—	—	—
Меланин А . . . . .	—	—	0,5	—	—
Меланин В . . . . .	—	—	—	0,5	—
Меланин А <sub>1</sub> . . . . .	—	—	—	—	0,5

Пробирки после встряхивания ставят в термостат при 37° на 2 часа 45 минут, после чего оставляют на 15 минут при комнатной температуре. Реакция читается на-глаз; сила ее обозначается крестами.

При чтении, держа пробирку между большим и указательным пальцами, катают ее, чтобы взмутить преципитат. После этого осторожно два раза переворачивают пробирку, что дает возможность отличить простое выпадение меланина от настоящей флоккуляции.

Контрольные пробирки должны быть совершенно прозрачны.

## 2. Трипаносомы

Трипаносомы (рис. 48) принадлежат к классу жгутиковых (Flagellata). Многие трипаносомы вызывают заболевания человека и животных. Трипаносомиаз человека встречается в Африке и Южной Америке.

Трипаносомы — возбудители африканского и южноамериканского трипаносомиаза — значительно различаются между собой по морфологии и циклу развития и принадлежат к различным родам.

**Морфология.** Трипаносома имеет удлиненную форму тела. В середине тела лежит ядро. На заднем конце тела имеется небольшое образование, интенсивно окрашивающееся ядерными красками (блефаропласт), от которого начинается жгут, идущий по краю ундулирующей мембраны и оканчивающийся свободно на переднем конце тела. Трипаносомы размножаются продольным делением.

Большинство трипаносом прodelывает цикл развития в двух хозяевах — позвоночном и членистоногом; последнее и является переносчиком трипаносомиазов человека и животных.

а) *Трипаносома gambiense* — возбудитель африканского трипаносомиаза, или, иначе, сонной болезни, представляющей жестокое или даже смертельное заболевание. Болезнь характеризуется двумя стадиями: в первой, острой, возбудитель циркулирует в крови; во второй, хронической, он гнездится в центральной нервной системе и вызывает тяжелые нервные явления. Соответственно этому



в первой стадии паразита нужно искать в крови, во второй — в спинномозговой жидкости. Кровь в первой стадии желательно брать во время лихорадочного приступа, делая укол кожи лучше всего на месте наблюдающейся при этой болезни эритемы или инфильтратов. Так как паразитов в крови мало, то необходимо во всех случаях исследовать толстую каплю. При исследовании спинномозговой жидкости делают препараты из осадка, полученного центрифугированием.

Лучше всего применять способ окраски по Романовскому краской Гимза. В окрашенных препаратах ядро, блефаропласт и жгут окрашены в красный цвет, ундулирующая мембрана — в бледнорозовый, протоплазма — в голубой. Паразиты лежат свободно между клетками крови.

Переносчиком *Trypanosoma gambiense* является кровососущая муха цеце (род *Glossina*). Насасываясь крови, она заглатывает паразитов. Паразиты проделывают в желудке мухи определенную фазу развития, затем продвигаются кпереди, в преджелудок, хоботок и проникают в слюнные железы. Здесь они претерпевают дальнейшие превращения, в результате которых образуются формы, заразные для человека. При укусах человека зараженной мухой в кровь его попадают эти паразиты.

б) *Schizotrypanum cruzi* (Chagas) — возбудитель американского трипаносомиаза, или болезни Чагаса. Болезнь эндемична в некоторых местах Бразилии, Венесуэлы и Перу, протекает в виде острого и хронического заболевания; первое чаще наблюдается у детей.

*Schizotrypanum Cruzii* встречается в организме человека в двух формах: 1) в виде трипаносомной формы, по морфологии несколько отличающейся от *Trypanosoma gambiense* (*Schizotrypanum cruzi* имеет меньшие размеры, короткую ундулирующую мембрану и блефаропласт крупных размеров), и 2) в виде округлой формы, сходной с формой лейшманий.

Трипаносомная форма циркулирует в крови во время лихорадочного периода, в первые 20—30 дней болезни. В этот период кровь иногда содержит паразитов в большом количестве; но в ряде случаев их немного, и потому, наряду с мазками, необходимо исследовать и толстую каплю. Позже паразит проникает в клетки различных органов (сердечная мышца, поперечнополосатые мышцы, гладкие мышцы кишок, центральная нервная система). Проникнув в клетку, трипаносома теряет ундулирующую мембрану, тело ее округляется, после чего она начинает делиться. В результате многократного деления получают большие скопления паразитов, находящиеся в клетках органов. Обнаружение паразитов в этой стадии при жизни невозможно.

Переносчиками являются клопы из семейства Reduviidae (*Triatoma megista*, *infestans*, *sordida*). Эти клопы кусают людей только ночью, во время сна. Заглоченные клопом трипаносомы проделывают цикл развития в его желудочно-кишечном тракте, и формы трипаносом, заразные для человека, выделяются с испражнениями клопа. Заражение происходит вследствие загрязнения места укуса калом насекомого при расчесах.

### 3. Лейшмании

Лейшмании (рис. 49), как и трипаносомы, принадлежат к классу жгутиковых. Впервые сведения о возбудителе были даны русским ученым Боровским в 1899 г. Марциновский и Шульман в 1902 г. подтвердили эти находки. В 1903 г. Лейшман снова «открыл» этого паразита и дал ему название «лейшмании». Лейшмании встречаются в двух формах — жгутиковой и лейшманиантной. Жгутиковую форму, называемую лептомонадной;



находят в теле насекомых, являющихся переносчиками инфекции, и в культурах. У человека же они встречаются в лейшманиальной форме, когда лишены жгутиков. В единичных случаях у человека в мозгу и селезенке наблюдается лептомонадная форма. Клинически лейшманиоз делится на кожный и висцеральный. Кожный лейшманиоз в свою очередь делится на: 1) местный лейшманиоз одной только кожи — восточная, или пендинская, язва (возбудитель — *Leishmania tropica*); болезнь наблюдается в Южной Азии (Туркменская ССР), Южной Европе, Северной Африке и Центральной Америке; 2) лейшманиоз кожи, слизистой оболочки носоглотки и верхних дыхательных путей (возбудитель — *Leishmania brasiliensis*); болезнь распространена в Центральной и Южной Америке.

Висцеральный лейшманиоз известен под названием болезни кала-азар. Возбудитель — *Leishmania dologani*. Болезнь наблюдается в Индии, Китае, Северной Африке, Сицилии, Туркменской ССР. В некоторых странах (Италии, Палестине) она поражает почти исключительно детей, что послужило основанием для выделения детского лейшманиоза в особую группу. Переносчиками болезни являются москиты.

1) **Морфология** всех видов паразита настолько сходна, что дифференцировать их по морфологическим признакам невозможно. Лейшманиальные формы представляют очень маленькие, круглые или овальные, реже вытянутые образования. Величина их значительно меньше величины эритроцита. В препаратах, окрашенных по Романовскому-Гимза, протоплазма окрашена в розовато-голубой цвет; ядро, большей частью круглой формы, занимает почти половину всей клетки и представляет собой кучку хроматина вишневокрасного цвета. Блефаропласт — маленькая точка или палочка темнокрасного цвета, лежащая вплотную рядом с ядром.

В тканях паразиты лежат всегда внутри клеток ретикуло-эндотелия сосудов, скопляясь в большом количестве. В отделяемом язвенных поверхностей они лежат свободно: частью рассыпаны поодиночке, частью образуют кучки.

Диагностика при поражении кожи и слизистой оболочки не представляет трудности. Паразиты легко отыскиваются в мазках из отделяемого язвенной поверхности, взятых обычным способом и окрашенных по Романовскому. Значительно более трудным представляется диагноз висцерального лейшманиоза при поражении внутренних органов. В этом случае в мазках крови найти паразитов очень трудно. Иногда они обнаруживаются в нейтрофилах и моноцитах; легче найти их в пунктатах костного мозга, селезенки и печени.

2) **Исследования пунктата грудины.** Предложенная Аринкиным в 1929 г. техника пункции грудины для добывания костного мозга сыграла большую роль в распознавании лейшманиоза. В последние годы она все больше внедряется в практику как технически несложный и безопасный метод и вытесняет практиковавшиеся ранее пункции селезенки, печени и трепанацию большеберцовой кости. Из пунктата костного мозга готовят мазки, фиксируют и окрашивают их, как мазки крови. Паразитов удается найти не только в первые дни болезни, но даже на 12—15-й день и значительно позднее. Иногда они встречаются в значительном количестве, частью расположены внутри клеток, частью лежат свободно. Однако в некоторых случаях, особенно при слабо выраженном заболевании или после лечения, число их невелико и для обнаружения паразитов требуется тщательное и продолжительное исследование препарата.

3) **Формоловая реакция (Гате-Папакоста Нэпир).** Для распознавания лейшманиоза был предложен ряд реакций, основанных на физико-химических изменениях сыворотки. Реакции эти не специфичны по



отношению к отдельным видам лейшманиоза, но могут быть полезны для распознавания лейшманиоза как такового. К числу их принадлежит формоловая реакция. В стерильную пробирку берут из вены около 10 см<sup>3</sup> крови и дают ей свернуться при комнатной температуре. После этого сыворотку сливают и разливают в 3 пробирки по 1 см<sup>3</sup>. В первую пробирку наливают 1 каплю продажного (40%) формалина, во вторую — 2 капли, в третью — 3 капли. Пробирки встряхивают до получения гомогенной смеси, закрывают ватными пробками и оставляют при комнатной температуре. Результат читают через 24 часа и вторично через 36 часов. При этом в некоторых пробирках сыворотка превращается в плотную желеобразную массу, в других — остается жидкой. Реакция считается резко положительной, если желеобразная масса в перевернутой вверх дном пробирке не смещается, не соскальзывает вдоль стенок; слабо положительной, если масса скользит, сползает вниз; отрицательной, если сыворотка остается жидкой.

Реакция впервые была предложена для распознавания сифилиса, но оказалась непригодной. При лейшманиозе она приобрела определенное диагностическое значение. Положительный результат наблюдается лишь с третьего месяца заболевания.

#### Б. Спирохеты возвратного тифа (*Spirochaete obermeieri*, *s. Borrelia recurrentis*) (рис. 50)

В настоящее время выяснено, что переносчиками возвратного тифа могут быть вши и клещи.

Возвратный тиф, передаваемый вшами, встречается во всех странах. Возбудитель его — *Spirochaeta recurrentis obermeieri*. В качестве возбудителей клещевого возвратного тифа описано несколько видов спирохет. Главнейшие из них: *Spirochaeta duttoni* — возбудитель африканского возвратного тифа, *Spirochaeta venezuelensi* — возбудитель американского возвратного тифа, *Spirochaeta hispanica* — возбудитель испанского возвратного тифа и *Spirochaeta usbecistanica* (описана впервые русским исследователем И. Н. Пикулем в 1928 г.) — возбудитель среднеазиатского клещевого возвратного тифа.

Клиническая картина болезни в различных странах не совсем одинакова, но морфологические различия возбудителей незначительны и не могут служить критерием для дифференцирования.

Для обнаружения спирохет возвратного тифа в крови пользуются почти исключительно исследованием окрашенных мазков. Однако лучше одновременно брать и толстую каплю, так как бывают случаи, когда спирохет в крови немного. Кровь нужно брать во время приступа, так как возбудители появляются в циркулирующей крови лишь за несколько часов до подъема температуры. Приготавливают мазки обычным способом. Фиксируют алкоголем (метиловым или этиловым) или даже просто проведением над пламенем; при последнем способе фиксации получаются не такие красивые препараты.

Для окраски проще всего пользоваться фуксином Циля, разведенным в 4—5 раз водой, окрашивая препарат несколько минут. На таком препарате эритроциты окрашены в яркокрасный цвет и между ними ясно выступают штопорообразно извитые тонкие нити, заостренные на концах, тоже окрашенные в красный цвет. Длина спирохет 10—40 м. Фуксином можно окрашивать только мазки; окраска толстой капли фуксином не удается.



При окраске по Романовскому (см. примечание, стр. 23) получаются тоже очень красивые препараты. Спирохеты отчетливо видны как в мазках, так и в толстой капле. Они окрашены в фиолетовый цвет, в отличие от *Treponema pallida*, которая при этой окраске принимает розоватый цвет.

Иногда в препарате спирохет бывает так много, что они лежат кучками в виде нежного войлока. Спирохеты надо уметь отличать от волокон фибрина. Нити фибрина, расположенные отдельно или в виде войлока, представляются более толстыми, длинными и не имеют таких правильных изгибов.

Спирохеты Обермейера исследуются также на свежих препаратах, для чего лучше пользоваться темным полем зрения, разведя кровь небольшим количеством физиологического раствора. На свежих препаратах они выделяются очень энергичной подвижностью. Можно исследовать их и по способу Бурри. Для этого капелька исследуемой крови (или другого материала) смешивается на предметном стекле с каплей китайской туши и быстро размазывается тонким слоем по стеклу краем другого стекла. Высохший препарат можно непосредственно рассматривать с иммерсионной системой. Спирохеты (и вообще все микроорганизмы) не воспринимают китайской туши и под микроскопом резко выступают в виде светлых образований на темном фоне (см. стр. 435).

### ГЛАВА ТРЕТЬЯ

## РЕАКЦИЯ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА И ОСАДОЧНЫЕ РЕАКЦИИ

Реакция связывания комплемента описана впервые Борде и Жангу в 1901 г. Напомним вкратце сущность реакции.

Если мы будем повторно вводить кролику эритроциты другого животного (например, барана), то в крови его появляются особые антитела, благодаря которым кровь его приобретает свойство растворять эти эритроциты. Указанные антитела называются гемолизинами. Точно так же если вводить кролику культуру каких-нибудь бактерий (например, холерных), то кровь его приобретает свойство растворять эти бактерии; антитела в данном случае называются бактериолизинами. Борде удалось доказать, что как при гемоллизе, так и при бактериолизе участвуют два антитела: одно — более устойчивое по отношению к нагреванию и другим воздействиям, другое — менее устойчивое и быстро разрушающееся вне организма. Первое есть собственно специфический продукт иммунизации; согласно наиболее принятой номенклатуре Эрлиха, оно называется амбоцептором; второе содержится в нормальной сыворотке крови всякого животного и названо было Эрлихом компонентом. Вещества же, вызывающие в организме животного образование специфических антител, называются антигенами.

Реакция связывания комплемента есть реакция взаимодействия между антигеном, амбоцептором и компонентом. Ее легко воспроизвести *in vitro*: если в пробирке смешать холерные вибрионы (антиген), иммунную холерную сыворотку (амбоцептор) и свежую сыворотку морской свинки (компонент), то эти три реагента вступят во взаимную связь и в результате произойдет растворение бактерий. Точно так же если смешать бараньи эритроциты, специфическую гемолитическую сыворотку и компонент, то произойдет растворение эритроцитов. И в первом, и во втором случае в пробирке имелаась комбинация антигена, специфического амбо-



цептора и комплемента; эти элементы вступают во взаимную связь, откуда и происходит название «связывание комплемента». Такой связи, или связывания, не произойдет, если к холерным вибрионам вместо холерной сыворотки прибавить тифозную.

Основой реакции является способность комплекса антиген — антитело, образующегося в процессе их взаимодействия, адсорбировать комплемент. При отсутствии же специфического сродства между антигеном и сывороткой образование комплекса не имеет места и адсорбция комплемента не происходит. Чтобы установить, произошла ли адсорбция комплемента в первой фазе реакции или последний остался несвязанным, в реакцию вводится вторая система — гемолитическая, состоящая из эритроцитов и гемолитической сыворотки, способной при наличии комплемента лизировать эритроциты. Таким образом, предложенная Борде-Жангу реакция сводится к следующему.

В пробирке смешивают бактерии (например, тифозные) со специфической иммунной сывороткой и комплементом и ставят на некоторое время (на 1 час) в термостат при 37°. Через час в ту же пробирку прибавляют эритроциты + гемолитическую сыворотку, не приливая комплемента. В пробирке первоначально были смешаны антиген, специфический амбоцептор и комплемент; следовательно, должно было произойти связывание комплемента; для прибавленных эритроцитов + гемолитическая сыворотка свободного комплемента не осталось, и гемолиз наступить не может. Если же в пробирке смешать тифозную культуру с холерной иммунной сывороткой, то связывания комплемента не произойдет, комплемент останется свободным. Прибавив затем эритроциты + гемолитическую сыворотку, мы получим гемолиз.

Итак, отсутствие гемолиза по прибавлении гемолитической сыворотки и эритроцитов есть доказательство происшедшего связывания комплемента, доказательство положительного результата, наступление же гемолиза — доказательство отрицательного результата.

Реакцию связывания комплемента можно использовать с диагностической целью двояким образом: 1) имея известный антиген (бактериальную эмульсию), можно определить в крови присутствие специфического к нему антитела (амбоцептора) и тем поставить диагноз заболевания; 2) имея в распоряжении специфическое антитело (иммунную сыворотку), можно определить вид неизвестного микроорганизма. Из реакций, основанных на принципе реакции связывания комплемента, наибольшее диагностическое значение имеет реакция Вассермана.

### РЕАКЦИЯ ВАССЕРМАНА

В 1906 г. Вассерман, Нейссер (Neisser) и Брук (Bruck) опубликовали опыт применения реакции связывания комплемента для диагноза сифилиса. Свои первые опыты они проделали на обезьянах, причем в качестве антигена взамен культуры спирохет, которую тогда еще не умели выращивать, впрыскивали им водные вытяжки из сифилитических органов. Подвергнув затем исследованию сыворотку зараженных обезьян, они обнаружили, что при смешении *in vitro* с вытяжками сифилитических органов она дает связывание комплемента. Такое же свойство они обнаружили и в сыворотке человека при заболевании сифилисом. Эти факты привели их к заключению, что: 1) исследуемая сыворотка содержала специфические антитела и 2) взятые ими вытяжки из органов содержат специфический антиген. Последующее изучение сущности реакции пока-



зало, что исходная мысль Вассермана, Нейссера и Брука была ошибочной. Теоретические предпосылки реакции были опровергнуты. Реакция не представляет собой специфической реакции иммунитета и по своему механизму отличается от реакции Борде-Жангу. В то время как последняя основывается на адсорбции комплемента специфическим комплексом антиген — антитело, в реакции Вассермана антигеном является не культура бледной спирохеты, а липоиды сифилитической и даже нормальной ткани.

Наиболее распространенным является объяснение механизма реакции Вассермана с точки зрения физико-химических изменений сыворотки. В сыворотках сифилитиков глобулины более лабильны и легче вступают во взаимодействие с липоидами антигена, образуя преципитат, не видимый глазом, но способный адсорбировать комплемент. Однако в последнее время все более накапливаются данные, объясняющие эту реакцию как иммунобиологическую. Так, установлено, что полноценным антигеном в организме является белково-липидный комплекс бледной спирохеты и продуктов распада ткани; липоидная же часть его по химическому составу близка к тканевым липоидам, чем и объясняется антигенное действие липоидов.

Реакция Вассермана в настоящее время представляет собой один из наиболее ценных методов исследования. Многочисленные диагностические реакции, предложенные для ее замены, не смогли ее вытеснить.

Реакция, описанная Вассерманом, Нейссером и Бруком, в короткое время породила большую литературу, причем рядом исследователей были предложены различные модификации оригинального метода, стремившиеся, с одной стороны, упростить методику, а с другой — повысить ее чувствительность. Обилие предложенных модификаций вызвало необходимость унификации методов серодиагностики сифилиса. Такие попытки были сделаны в разных странах. В СССР в 1928 г. XI съездом бактериологов была рассмотрена инструкция, выработанная центральной серологической комиссией под председательством Ю. А. Финкельштейна. Съезд признал инструкцию обязательной для всех серологических лабораторий СССР. Ниже мы излагаем методику применительно к инструкции с дополнениями, принятыми серологической комиссией в 1946 г.

Техника реакции. Для выполнения реакции необходимо иметь следующие ингредиенты: эритроциты барана, комплемент, гемолитическую сыворотку, антиген, сыворотку исследуемого больного, сыворотку здорового, дающего отрицательную реакцию, и сыворотку сифилитического больного, дающего положительную реакцию Вассермана. Кроме того, нужен физиологический раствор поваренной соли (0,85%). Последний применяется для разведения всех ингредиентов.

Первоначально реакция ставилась таким образом, что каждого ингредиента, соответствующим образом разведенного, брали по 1 см<sup>3</sup>, а так как в реакцию входит 5 ингредиентов, то содержимое каждой пробирки равнялось 5 см<sup>3</sup>. В настоящее время принято работать в половинных дозах (по 0,5 см<sup>3</sup>) при общем объеме в 2,5 см<sup>3</sup>.

Некоторые авторы предлагают уменьшить дозу еще наполовину и работать с дозами в 0,25 см<sup>3</sup> при общем объеме в 1,25 см<sup>3</sup>; последнее, согласно инструкции, допустимо только при недостаточном количестве сыворотки.

1) **Посуда и предметы оборудования:** пробирки небольшого размера, примерно 10 см длины и 1,5 см ширины; центрифужки обычные и широкие круглодонные (для отмывания эритроцитов); пипетки мерительные на 1 см<sup>3</sup> с делениями на 0,01 см<sup>3</sup>, а также на 5 см<sup>3</sup> и на 10 см<sup>3</sup> с делениями на 0,1 см<sup>3</sup>; мерительные цилиндры разных размеров; колбы



Эрленмейера разных размеров; стеклянные бусы; стеклянные воронки; трех-или четырехрядные штативы (для пробирок желательны проволочные); водяная баня с термометром для инактивирования сывороток; термостат ( $37^{\circ}$ ) или плоская четырехугольная водяная баня с термометром для инкубации; иглы и шприцы для взятия крови; -комнатный ледник; центрифуга.

Вся посуда моется горячей водопроводной водой, если нужно — с помощью ерша. По окончании мытья воде дают полностью стечь, после чего высушивают посуду в сушильном шкафу. Применения щелочи и кислот при мытье посуды необходимо избегать.

2) Приготовление отдельных ингредиентов. а) Физиологический раствор. Раствор нужно готовить из химически чистого хлористого натрия. Отвешивают на технических весах 8,5 г хлористого натрия и растворяют в 1 л дистиллированной воды, если нужно (т. е. если он не вполне прозрачен), фильтруют в чистую сухую колбу, после чего стерилизуют кратковременным кипячением. Раствор должен иметь нейтральную реакцию; желательно его часто возобновлять.

б) Эритроциты барана. Свежую баранью кровь, полученную проколом яремной вены и дефибрированную встряхиванием в стерильном сосуде со стеклянными бусами, фильтруют через стерильную марлю, центрифугируют; сыворотку отсасывают, а осевшие эритроциты отмывают начисто от сыворотки повторным 3—4-кратным центрифугированием с физиологическим раствором в течение 10—15 минут. После каждого центрифугирования жидкость над осадком отсасывают и заменяют ее свежей порцией физиологического раствора.

В результате последнего центрифугирования жидкость над эритроцитами должна быть совершенно бесцветной и прозрачной. Если она окрашена в красный цвет, т. е. если произошел частичный гемолиз, то эритроциты не годны к употреблению. Гемолиз может зависеть как от хрупкости самих эритроцитов, так и от недоброкачества физиологического раствора. В реакции применяется 2,5% или 3% взвесь эритроцитов из осадка (на 1 см<sup>3</sup> осадка эритроцитов добавляется 33—40 см<sup>3</sup> физиологического раствора). При отсутствии центрифуги допускается применение неотмытых эритроцитов в виде 5% эмульсии дефибрированной крови барана. Для получения эритроцитов пользуются бараном не моложе одного года; кровопускание возможно не чаще одного раза в 10 дней.

Баранью кровь можно сохранять в холодном месте и неотмытой; она может стоять 5—6 дней. Если желательно сохранить ее на большее время, то к дефибрированной крови, не отмывая ее, прибавляют формалин в отношении 1:700.

в) Гемолитическая сыворотка (гемолизин, гемолитический амбоцептор). Гемолитическую сыворотку можно получать готовой в крупных бактериологических институтах. Сыворотка отпускается с указанием титра. Титр указывает то предельное разведение сыворотки, которое, будучи смешано с равным объемом (0,5 см<sup>3</sup>) 10% раствора комплемента, полностью гемолизует 0,5 см<sup>3</sup> эмульсии бараньих эритроцитов после стояния в термостате в течение часа. Титр желательно время от времени проверять. Для постановки основного опыта, а также для титрования антигена и комплемента употребляют разведение, которое в 3 раза крепче титра, т. е. если титр равен 1:1200, то берут разведение 1:400 (0,1 см<sup>3</sup> гемолитической сыворотки, отмеренной пипеткой на 1 см<sup>3</sup> с делением на 0,01 см<sup>3</sup> или микропипеткой на 0,1 см<sup>3</sup>, вливают в 40 см<sup>3</sup> физиологического раствора).



Гемолитическая сыворотка обычно получается от кроликов, иммунизированных эритроцитами барана. В целях иммунизации кролику в краевую вену уха впрыскивают (см. «Микробиологические и серологические исследования») свежее дефибринированные и хорошо отмытые эритроциты барана, разведенные равным объемом физиологического раствора. Впрыскивания повторяют 3—4 раза с промежутком в 3—4 дня, вводя при каждом впрыскивании по 2—3 см<sup>3</sup> 50% эмульсии эритроцитов. Если почему-либо не удастся попасть в вену, то можно иммунизировать и подкожно, но при этом взамен 2 см<sup>3</sup> надо вводить 5—6 см<sup>3</sup>. Спустя 7—8 дней после последнего впрыскивания надрезают краевую вену и берут у животного из надреза небольшое количество крови, дают ей свернуться, центрифугируют; полученную сыворотку отсасывают, титруют и, убедившись, что титр сыворотки достаточно высок, обескровливают животное. Для полного обескровливания отсепааровывают бедренную или сонную артерию: перерезают ее ножницами и собирают вытекающую кровь в подставленный цилиндр.

Можно производить и частичное обескровливание пункцией сердца или разрезом ушной вены.

Крови дают свернуться, отделяют сгусток от стенок сосуда стеклянной палочкой, ставят на несколько часов в ледник, затем центрифугируют. Полученную прозрачную сыворотку переносят стерильной пипеткой в стерильные пробирки, инактивируют нагреванием на водяной бане при 56° в течение получаса, прибавляют консервирующую смесь (см. ниже), разливают по стерильным ампулам и хранят в леднике.

Для консервирования жидкой гемолитической сыворотки по Коху на каждые 9 частей сыворотки прибавляют 1 часть следующего состава: *Ac. carbolicum liquefactum* 5,5, *glycerini puri* 20,0, *Aq. destill.* 74,5.

По Гинзбургу и Калинину, к еще теплой после инактивирования сыворотке прибавляют 1% сухой борной кислоты, оставляют стоять при комнатной температуре до полного растворения борной кислоты, затем хранят на леднике.

Титрование сыворотки (табл. 5) сводится к определению того предельного разведения, которое в количестве 0,5 см<sup>3</sup> в присутствии 0,5 см<sup>3</sup> 10% раствора комплемента дает полный гемолиз 0,5 см<sup>3</sup> 30% эмульсии эритроцитов после стояния в течение часа в термостате или на водяной бане при 37°.

Схема титрования гемолитической сыворотки

Таблица 5

№ пробирки	Гемолитическая сыворотка		30% взвесь эритроцитов (в см <sup>3</sup> )	Комплект в разведении 1:10 (в см <sup>3</sup> )	Физиологический раствор (в см <sup>3</sup> )	Инкубация	Результат
	степень разведения	количество (в см <sup>3</sup> )					
1	1:1 000	0,5	0,5	0,5	1,0	В термостат при 37° на 1 час	Полный гемолиз
2	1:1 200	0,5	0,5	0,5	1,0		» »
3	1:1 500	0,5	0,5	0,5	1,0		Неполный гемолиз
4	1:1 800	0,5	0,5	0,5	1,0		» »
5	1:2 000	0,5	0,5	0,5	1,0		» »
6	1:2 500	0,5	0,5	0,5	1,0		» »
7	1:3 000	0,5	0,5	0,5	1,0		Отсутствие гемолиза
Контроль	8	1:1 000	0,5	0,5	1,0	В термостат при 37° на 1 час	» »
	9	—	0,5	—	1,5		Полное отсутствие гемолиза
	10	—	0,5	—	2,0		



Титрование сыворотки производится следующим образом. Приготавливают основное разведение сыворотки 1:100, для чего отмеривают 0,1 см<sup>3</sup> сыворотки микропипеткой на 0,1 см<sup>3</sup> или мерительной пипеткой на 1 см<sup>3</sup> с делениями на 0,01 см<sup>3</sup> и смешивают с 9,9 см<sup>3</sup> физиологического раствора. Из этого основного раствора готовят ряд дальнейших разведений (1:1 000 — 1:1 200) и т. д. Хорошо размешав, наливают в ряд пробирок по 0,5 см<sup>3</sup> из каждого разведения (начиная с самого слабого т. е. с разведения 1:2 500 или 1:3 000), приливают по 0,5 см<sup>3</sup> 3% взвеси эритроцитов, по 0,5 см<sup>3</sup> 10% раствора комплемента и по 1 см<sup>3</sup> физиологического раствора.

Физиологический раствор прибавляют для того, чтобы содержимое каждой пробирки равнялось 2,5 см<sup>3</sup>.

Параллельно ставят три контрольные пробирки для контроля отдельных ингредиентов, т. е. эритроцитов, комплемента и гемолитической сыворотки; содержимое контрольных пробирок показано в схеме.

Все пробирки хорошо встряхивают и ставят в термостат на 1 час. Вынув из термостата, их рассматривают, и в той пробирке, где жидкость вполне прозрачна и не содержит ни малейшего осадка, гемолиз считается полным. Допустим, что разведение 1:1 200 и предыдущее дали полный гемолиз, а следующее дало уже ничтожный осадок эритроцитов; тогда титр сыворотки считается 1:1 200.

В контрольных пробирках не должно быть и следов гемолиза.

При постановке реакции с сывороткой больного, а также при титровании комплемента и антигена употребляют разведение, концентрация которого в 3 раза сильнее титра, т. е. если, как в приведенном примере, титр равен 1:1 200, то берут разведение 1:400.

При всех последующих титрованиях, а также при постановке анализа все входящие ингредиенты, как при только что описанном титровании, берут в количестве 0,5 см<sup>3</sup>. Исключение составляют сыворотки исследуемые и контрольные, которые берут по 0,1 см<sup>3</sup>. Содержимое каждой пробирки в общем должно быть равно 2,5 см<sup>3</sup>; недостающее количество доливают физиологическим раствором.

г) Комплемент. Источником комплемента служит сыворотка морской свинки, так как содержание комплемента в крови этого животного наиболее постоянно. Кровь у свинки добывается в день реакции или накануне либо пункцией сердца (при помощи шприца на 5 или 10 см<sup>3</sup>, промытого физиологическим раствором), либо обескровливанием животного, либо из уха животного.

Пункция сердца требует значительного навыка. Во время пунктирования свинку необходимо фиксировать; проще всего положить ее на доску животом кверху и привязать лапки марлевым бинтом к 4 гвоздям, вбитым в доску. Если имеется помощник, то он может фиксировать животное руками, держа в одной руке задние лапы, в другой — передние и придерживая этой же рукой голову. Пункцию производят в область толчка во втором межреберье слева. Иглу вкалывают на глубину 1,5—2 см. Если игла попала в полость желудочка, то кровь насасывается легко (аспиратор надо медленно). Берут у одной свинки не больше 5—6 см<sup>3</sup> крови. Добытую кровь спускают в чистую сухую пробирку и ставят для ускорения свертывания на полчаса в термостат; затем сгусток отделяют от стенок пробирки, кровь центрифугируют и сыворотку отсасывают пастеровской пипеткой. Для реакции ее разводят физиологическим раствором в отношении 1:10 (1 см<sup>3</sup> сыворотки + 9 см<sup>3</sup> физиологического раствора).

Сыворотка (неразведенная) может сохраняться не более 1—2 дней. Пункцию сердца у одной и той же свинки можно повторять много раз с промежутками в 3—4 недели.



Для реакции рекомендуется одновременно брать кровь у 3—4 здоровых небеременных свинок и работать с их смесью.

Консервирование комплемента. Допускается применение консервированного комплемента. По Гинзбургу и Калинин, комплемент может сохраняться в течение 1—2 месяцев на леднике, если на каждые 10 см<sup>3</sup> сыворотки прибавить смесь, состоящую из 0,4 г сухой борной кислоты и 0,5 г кристаллического сернокислого натрия. Оба вещества должны быть химически чистыми; если имеется сомнение в этом, то их подвергают двукратной перекристаллизации в дистиллированной воде. Такой комплемент можно пересылать на далекие расстояния.

В случае применения сухого консервированного комплемента 1 весовая часть его растворяется в 9 частях физиологического раствора и из него получают дальнейшие разведения, как из жидкого комплемента. Высушивание комплемента требует специальной установки, так как производится в вакууме. Возможность консервирования комплемента, конечно, очень упрощает выполнение реакции.

Титрование комплемента (табл. 6). Независимо от того, применяется ли в реакции нативный или консервированный комплемент, перед каждым выполнением опыта производится его титрование, т. е. устанавливают то наименьшее количество комплемента, которое, будучи смешано с 0,5 см<sup>3</sup> гемолизина (в тройном титре), гемолизует 0,5 см<sup>3</sup> 3% эмульсии эритроцитов.

Таблица 6

Схема титрования комплемента

№ пробирки	Комплемент 1:10 (в см <sup>3</sup> )	Антиген, разведение по титру (в см <sup>3</sup> )	Физиологи- ческий рас- твор (в см <sup>3</sup> )	Инкубация	Гемолитиче- ская смесь (в см <sup>3</sup> )	Инкубация	Результат
1	0,05	—	1,45	В термостат на 45 минут	1,0	В термостат на 1 час	Задержка гемолиза
2	0,1	—	1,4		1,0		Неполный гемолиз
3	0,15	—	1,35		1,0		»
4	0,2	—	1,3		1,0		»
5	0,25	—	1,25		1,0		Полный гемолиз
6	0,3	—	1,2		1,0		»
7	0,35	—	1,15		1,0		»
8	0,4	—	1,1		1,0		»
9	0,45	—	1,05		1,0		»
10	0,5	—	1,0		1,0		»
11	0,05	0,5	0,95	В термостат на 45 минут	1,0	В термостат на 1 час	Задержка гемолиза
12	0,1	0,5	0,9		1,0		Неполный гемолиз
13	0,15	0,5	0,85		1,0		»
14	0,2	0,5	0,8		1,0		»
15	0,25	0,5	0,75		1,0		Полный гемолиз
16	0,3	0,5	0,7		1,0		»
17	0,35	0,5	0,65		1,0		»
18	0,4	0,5	0,6		1,0		»
19	0,45	0,5	0,55		1,0		»
20	0,5	0,5	0,5		1,0		»
21	—	—	1,5		1,0		Полное отсутствие гемолиза
22	—	—			Одни эритроциты		
23	0,5	—	2,0 1,5		0,5 0,5		То же



Для этого готовят 10% раствор комплемента (1 см<sup>3</sup> комплемента + 9 см<sup>3</sup> физиологического раствора) и разливают его в ряд пробирок в различных количествах: 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 и т. д. до 0,5 см<sup>3</sup>. Учитывая антикомплемментарные свойства антигена, вызывающие иногда подавление активности комплемента, определяют титр комплемента также в присутствии антигена. Для этого в другой ряд пробирок наливают те же дозы комплемента от 0,05 до 0,5 см<sup>3</sup> и приливают в каждую пробирку этого ряда по 0,5 см<sup>3</sup> антигена, разведенного по титру. Объем во всех пробирках доводят физиологическим раствором до 1,5 см<sup>3</sup>. Штатив с пробирками после встряхивания помещают в термостат на 45 минут. Через 15 минут смешивают равные количества 3% взвеси бараньих эритроцитов и гемолитической сыворотки, разведенной по усиленному в 3 раза титру. Смешивание производят путем вливания гемолизина к эритроцитам. Полученную смесь (гемолитическую) выдерживают в термостате 30 минут (сенсibilизация) и затем добавляют во все пробирки по 1 см<sup>3</sup>; пробирки встряхивают и помещают в термостат на 45 или 60 минут. Одновременно ставятся три контрольные пробирки для проверки отдельных ингредиентов.

В приведенной схеме минимальная растворяющая доза 10% комплемента равна 0,25 см<sup>3</sup>. Для основного опыта берут дозу на 10—25% больше минимальной, т. е. 0,3 см<sup>3</sup>, причем готовят разведение комплемента с таким расчетом, чтобы рабочая доза неразведенного комплемента содержалась в 0,5 см<sup>3</sup>.

Расчет. Допустим, что нам нужно приготовить 25 см<sup>3</sup> разведенного комплемента. Минимальная растворяющая доза 10% комплемента равна 0,25 см<sup>3</sup>, что соответствует 0,025 см<sup>3</sup> неразведенного. Для опыта рабочая доза 0,03 см<sup>3</sup> неразведенного комплемента должна содержаться в 0,5 см<sup>3</sup>, следовательно, в 25 см<sup>3</sup> должно содержаться  $0,03 \text{ см}^3 \times 50$ , или 1,5 см<sup>3</sup>. Прибавив 1,5 см<sup>3</sup> неразведенного комплемента к 23,5 см<sup>3</sup> физиологического раствора, получим 25 см<sup>3</sup> разведенного комплемента нужной концентрации. Разведенный комплемент годен не дольше 24 часов.

В случае дефицита морских свинок для постановки реакции Вассермана допускается пользование комплексным комплементом, который представляет собой смесь равных количеств сыворотки морской свинки и человека. При пользовании комплексным комплементом титрование последнего производится по указанной схеме с основным разведением 1:10, за исключением того, что употребляется 2% эмульсия отмытых эритроцитов барана из осадка и пятикратный титр гемолизина. Надбавка для рабочей дозы 30—50%.

При полном же отсутствии морских свинок в условиях периферии для реакции Вассермана допускается пользование комплементом человека. Для этого сыворотки крови не менее как от 4 доноров с отрицательной реакцией Вассермана не позднее 24 часов после взятия крови смешивают и консервируют прибавлением 4% борной кислоты и 5% кристаллического сернокислого натрия. Титрование производят в основном разведении 1:1 по обычной схеме с 2% эмульсией отмытых эритроцитов барана из осадка и пятикратным титром гемолизина. Надбавка для рабочей дозы 50%.

д) Антиген. Как и гемолитическую сыворотку, антиген (с указанием титра) можно получать готовым в крупных институтах. Титр указывает, какое количество антигена нужно растворить в 1 см<sup>3</sup> физиологического раствора, чтобы получить рабочий раствор.

При приготовлении разведений можно либо вливать физиологический раствор в антиген, либо антиген приливать к физиологическому рас-



твору. Оба способа приняты в серологии. Необходимо придерживаться всегда одного и того же способа, так как титр антигена в зависимости от порядка приливания меняется. При первом способе рекомендуется физиологический раствор вливать в экстракт по каплям, тщательно встряхивая смесь после приливания каждой капли, при втором способе быстро выдувать экстракт в физиологический раствор.

В качестве антигена первоначально пользовались только экстрактом из печени сифилитического плода. В настоящее время гораздо более распространено применение экстрактов из сердечной мышцы различных животных, так как оказалось, что они также дают задержку гемолиза с сифилитическими сыворотками и не дают задержки с нормальными.

Так называемые специфические антигены, т. е. экстракты из сифилитических органов, не имеют преимущества перед несифилитическими. Так как не все антигены одинаково чувствительны, то реакцию рекомендуют ставить с несколькими антигенами. Согласно инструкции, каждая сыворотка ставится с тремя антигенами, причем один из них должен быть специфическим.

1. Специфический антиген по Финкельштейну готовят следующим образом. Печень сифилитического плода кладут для аутолиза на 24 часа в термостат при  $37^{\circ}$ , затем пропускают через мясорубку, намазывают тонким слоем на стеклянную поверхность, высушивают в сушильном шкафу при  $50-60^{\circ}$ , соскабливают со стекла и пропускают через кофейную мельницу или растирают в ступке в порошок. Одна весовая часть порошка обливается 5 объемными частями  $95^{\circ}$  спирта, взбалтывается во встряхивающем аппарате 6—10 часов или же вручную в делительной воронке 24 часа с перерывами, отстаивается в течение нескольких дней или центрифугируется. Полученная прозрачная желтая жидкость должна созреть, для чего ее оставляют при комнатной температуре в течение  $1\frac{1}{2}-2$  месяцев. Такой антиген держится очень долгое время, титр его обычно очень высок, рабочая доза не выше  $0,01 \text{ см}^3$ . Хранят его при комнатной температуре в темной склянке с притертой стеклянной пробкой.

2. Неспецифический антиген. Из неспецифических антигенов рекомендуются антигены, изготовленные из сердца быка, человека, лошади. По Заксу, одна весовая часть измельченного свежего сердца берется на 5 объемных частей  $95^{\circ}$  спирта, ставится на 24 часа во встряхивающий аппарат, фильтруется и к фильтрату прибавляется холестерин из расчета 1:1000—1:2000.

По Мейнике, 1 г измельченной и высушенной сердечной мышцы лошади обрабатывается в течение 1 часа во встряхивателе (или вручную в делительной воронке)  $9 \text{ см}^3$  эфира. Эфир отфильтровывают, мышцу высушивают и сухой порошок настаивают 2—3 суток при  $37^{\circ}$  с  $9 \text{ см}^3$  алкоголя, после чего фильтруют. Фильтрат служит антигеном. Все антигены хранят в темных склянках при комнатной температуре. Очень распространен также неспецифический антиген по Борде-Рюлану (описание см. в специальном руководстве).

3. Титрование антигена (табл. 7). Задача титрования антигена сводится к установке рабочей дозы его, т. е. той дозы, которая дает с сифилитической сывороткой положительную реакцию. Для этого сначала устанавливают ориентировочную дозу.

Приготавливают основное разведение, смешивая  $0,2 \text{ см}^3$  антигена с  $9,8 \text{ см}^3$  физиологического раствора. Такое разведение соответствует содержанию  $0,01 \text{ см}^3$  антигена в  $0,5 \text{ см}^3$ . Из него приготавливают ряд разведений с таким расчетом, чтобы в  $0,5 \text{ см}^3$  физиологического раствора







Далее нужно исследовать гемотоксичность антигена. Рабочая доза, как и двойная, не должна обладать гемотоксичностью, т. е. не должна давать и следов гемолиза (табл. 8).

е) Заведомо сифилитические и нормальные сыворотки при частой постановке реакции всегда имеются в лаборатории. В противном случае сифилитические сыворотки достают в специальных (венерологических) диспансерах или больницах. Сыворотки хранят в леднике. Они годны в течение 2—3 недель; более длительное хранение нежелательно.

ж) Кровь больного добывают из вены локтевого сгиба шприцем на 10 см<sup>3</sup>, промытым физиологическим раствором, или просто иглой от

Определение гемотоксичности антигена

Таблица 8

№ пробирки	Антиген	Эмульсия эритроцитов 50% (в см <sup>3</sup> )	Физиологический раствор (в см <sup>3</sup> )	Инкубация	Результат
1	0,5 (0,006) двойная рабочая доза . . . . .	0,5	1,5	В термостат на	Полное отсутствия гемолиза
2	0,5 (0,004) . . . . .	0,5	1,5	1 — 2	То же
3	0,5 (0,003) рабочая доза	0,5	1,5	часа	. .

шприца. Чтобы вызвать набухание вен, руку выше локтя перетягивают бинтом или резиновым жгутом; можно также предложить больному сжать руку в кулак. Операцию нужно делать строго асептично. Кровь собирают в стерильные пробирки. Пробирку с кровью (5—10 см<sup>3</sup>) ставят в термостат на полчаса-час, после чего сгусток отделяют от стенок пробирки платиновой петлей или стерильной стеклянной палочкой и кровь выносят на холод. У маленьких детей кровь берут из пятки путем надреза скальпелем. Перед постановкой опыта кровь центрифугируют (если сыворотки много и она хорошо отстоялась, то центрифугировать излишне), сыворотку отсасывают чисто вымытой сухой пастеровской пипеткой с насаженным на нее баллончиком, переносят в чистую сухую пробирку и инактивируют нагреванием в водяной бане при 55° в течение полчаса. Инактивированием достигается разрушение компонента человеческой крови. Рекомендуются брать кровь накануне или за 2 дня до постановки реакции натощак или не ранее 4 часов после приема пищи и не ранее 3 дней после медикаментозного лечения (наркотики, дигиталис и т. д.); нельзя брать кровь у лихорадящих и после употребления спиртных напитков.

Для более длительного сохранения к сыворотке после инактивирования добавляют 2% сухой борной кислоты, что позволяет пользоваться ею в течение 3—4 недель. Допускается также пользование высушенной сывороткой.

Высушивание сыворотки. Сыворотку наливают в виде двух отдельных капель по 0,5 см<sup>3</sup> на полоски вощанки, целлофана или плотной писчей бумаги. После этого сыворотку, защищенную от прямых лучей солнца, пыли и мух, оставляют до следующего дня при комнатной температуре. Полоски с высушенной сывороткой складывают и пересылают



в лабораторию. В лаборатории сыворотку, высушенную на вошанке и целлофане, легко снимают и помещают в пробирку с 1 см<sup>3</sup> физиологического раствора; высушенную же на писчей бумаге сыворотку вырезают в виде кружочков и также опускают в пробирку с 1 см<sup>3</sup> физиологического раствора. В физиологическом растворе сыворотку оставляют на 1 час при комнатной температуре или в термостате для растворения, затем инактивируют при 55° в течение 30 минут, после чего она может быть использована для постановки реакции Вассермана и осадочных реакций по обычной методике.

3) **Основной опыт** (табл. 9). Из предыдущего изложения видно, что гемолитическая сыворотка и антиген могут храниться долго, и потому их держат в лаборатории в запасе. Другие ингредиенты—комплемент и бараньи эритроциты—нестойки, и их рекомендуется заготавливать накануне постановки реакции (или в спешных случаях — в день реакции). В день постановки реакции производят: 1) приготовление нужных разведений всех ингредиентов—эритроцитов, комплемента, гемолитической сыворотки и антигена; при приготовлении разведений учитывают количество каждого ингредиента, которое потребуется для производства реакции; раствор комплемента готовят сначала только в количестве, необходимом для его титрования, а после выяснения результатов титрования готовят по расчету остальное количество (расчет см. выше); 2) титрование комплемента согласно приведенной выше схеме; 3) постановку основного опыта.

Постановка основного опыта представляет собой исследование сыворотки больного; оно сводится к испытанию того, дает ли исследуемая сыворотка, смешанная с различными антигенами, задержку гемолиза (первая, вторая, третья пробирки—см. схему). Если она дает задержку, результат реакции считается положительным; если нет, — отрицательным. Четвертая пробирка служит контрольной; в ней проверяют, не содержит ли сыворотка веществ, которые сами по себе, без прибавления антигена, способны задержать гемолиз.

Таблица 9

Схема основного опыта

№ про- бирки	Сыворотка челове- ская в раз- ведении 1:1 (в см³)	Антиген I, II и III, рабочая доза в 0,5 см³ физио- логического раствора	Физиологи- ческий рас- твор (в см³)	Комплемент (рабочая доза в 0,5 см³)	Инку- бация	Гемолити- ческая смесь (в см³)	Инку- бация	Резуль- тат	
Испытуемая сыворотка									
1	0,5	I 0,5	—	0,5	В термостат на 1 час	1,0	В термостат на 45 минут — 1 час	В зависи- мости от заболева- ния Полн. гем.	
2	0,5	II 0,5	—	0,5		1,0			
3	0,5	III 0,5	—	0,5		1,0			
4	0,5	—	0,5	0,5		1,0			
Сифилитическая сыворотка (контроль)									
1	0,5	I 0,5	—	0,5		1,0	В термостат на 45 минут — 1 час	Задержка гемолиза » » » Полн. гем.	
2	0,5	II 0,5	—	0,5		1,0			
3	0,5	III 0,5	—	0,5		1,0			
4	0,5	—	0,5	0,5		1,0			
Нормальная сыворотка (контроль)									
1	0,5	I 0,5	—	0,5		1,0	В термостат на 45 минут — 1 час	Полн. гем. » » » »	
2	0,5	II 0,5	—	0,5		1,0			
3	0,5	III 0,5	—	0,5		1,0			
4	0,5	—	0,5	0,5		1,0			



Каждая сыворотка ставится с тремя различными антигенами, причем по крайней мере один из них должен быть получен из центральной серологической лаборатории. Кроме того, параллельно ставятся контроли с нормальной и сифилитической сывороткой. В пробирках с нормальной сывороткой должен получиться полный гемолиз, в пробирках с сифилитической сывороткой — задержка гемолиза полная или частичная, в зависимости от силы сифилитической сыворотки.

Постановку реакции обычно начинают с разливания сывороток по пробиркам по 0,1 см<sup>3</sup>. Можно также приготовить разведение сыворотки 1:5, смешав 0,5 см<sup>3</sup> сыворотки с 2 см<sup>3</sup> физиологического раствора, и затем разлить по 0,5 см<sup>3</sup> этого раствора. Для выигрыша времени к разливанию сыворотки приступают, как только поставлено титрование комплемента. За время разливания результат титрования комплемента обычно выясняется.

Все пробирки как перед первым помещением в термостат (или в водяную баню), так и перед вторым энергично встряхивают, чтобы основательно смешать содержимое.

Результат реакции читают, сначала вынув пробирки из термостата, через 45 минут — 1 час, а затем вторично, дав им постоять на леднике до следующего утра.

Степень задержки обозначают крестами, причем +++ (4+) обозначают полную задержку (без следов гемолиза) — результат резко положительный; ++ (3+) обозначают почти полную задержку (очень незначительный гемолиз, слегка розоватое окрашивание) — результат также положительный; + и ++ (2+ и 1+) обозначают частичную задержку большей или меньшей силы — результат слабо положительный; — (минус) обозначает отрицательный результат.

Указанная оценка результатов производится в протоколе лаборатории, а в ответах, посылаемых лечащему врачу, результаты отмечаются без обозначения крестами следующим образом: 4+ и 3+ обозначаются как положительный результат, 2+ и + слабо положительный, + сомнительный и (минус) — отрицательный результат.

В случае резкого расхождения результатов реакции с различными антигенами, а также при наличии задержки гемолиза в контроле необходимо повторить исследование, взяв кровь у больного вторично. Суждение о нормальном течении реакции в основном опыте основывается на следующих результатах контроля: 1) контроль сывороток (четвертый ряд пробирок); 2) контроль нормальной сыворотки (—); 3) контроль положительной сыворотки (3+ и 4+); 4) контроль слабо положительной сыворотки (+ и 2+); 5) контроль антигена на антикомплемментарность (—); 6) контроль антигенов на гемотоксичность (4+).

**4) Реакция Вассермана со спинномозговой жидкостью.** Реакцию ставят не только с сывороткой крови, но и со спинномозговой жидкостью. К последнему способу прибегают при подозрении на заболевание центральной нервной системы (прогрессивный паралич и т. д.).

Спинномозговая жидкость для реакции применяется большей частью активная (негретая). Если она содержит кровь, ее инактивируют обычным способом; если она мутна, то ее предварительно центрифугируют.

Реакцию со спинномозговой жидкостью ставят не с одной дозой, а с тремя: 0,1 см<sup>3</sup>, 0,25 см<sup>3</sup> и 0,5 см<sup>3</sup> (при общем объеме 2,5 см<sup>3</sup>) (табл. 10).

Ввиду отсутствия антикомплемментарных свойств, комплемент для исследования спинномозговой жидкости берется по титру (первая растворяющая доза) без обычной надбавки. В ответе результаты опыта отмечают отдельно для каждой дозы.



Схема реакции со спинномозговой жидкостью

№ пробы	Спинномозговая жидкость неразведенная (в см <sup>3</sup> )	Антиген (в см <sup>3</sup> )	Комплемент (разведенный по титру) (в см <sup>3</sup> )	Физиологический раствор (в см <sup>3</sup> )	Инкубация	Гемолитическая смесь (в см <sup>3</sup> )	Инкубация
1	0,1	0,5	0,5	0,4	В термостат на 45 минут — 1 час	1,0	В термостат на 1 час
2	0,25	0,5	0,5	0,25		1,0	
3	0,5	0,5	0,5	—		1,0	
4	0,5	—	0,5	0,5		1,0	

Реакция ставится с теми же (обычно тремя) антигенами, что и кровяная сыворотка.

5) **Активные модификации реакции Вассермана.** При классической методике реакция Вассермана ставится с инактивированной сывороткой. Наряду с этим, многие авторы разрабатывали методы работы с активной (негретой) сывороткой, преследуя цель, с одной стороны, сделать реакцию более чувствительной, с другой — упростить методику. Целым рядом опытов установлено, что активные методы чувствительнее; недостаток их состоит в том, что они чаще дают неспецифический положительный результат, зато отрицательный результат с активной сывороткой с большей вероятностью говорит за отсутствие сифилиса.

При всех активных методах используется комплемент, содержащийся в исследуемой крови, т. е. реакция ставится без комплемента морской свинки. При некоторых модификациях используется также естественное содержание гемолизина в исследуемой крови. В этих случаях отпадает необходимость в гемолитической сыворотке и для реакции нужна только баранья кровь и антиген. Активных методов имеется очень много. Мы даем описание двух методов, предложенных советскими авторами и выполнимых в сельской обстановке.

а) **Метод Григорьева-Раппопорт.** В основу метода положено: 1) использование комплемента испытуемой крови; 2) применение цельной дефибринированной бараньей крови, а не отмытых эритроцитов, что дает возможность работать без центрифуги. Для подавления комплемента бараньей крови применяется специальный фиксатор следующего состава: сернокислый цинк — 0,5 г, формалин — 1 см<sup>3</sup>, поваренная соль — 3,6 г, вода дистиллированная — 400 см<sup>3</sup>.

Вся реакция производится при комнатной температуре.

**Подготовка ингредиентов.** 1. Приготовление раствора бараньей крови: в склянку вместимостью около 50 см<sup>3</sup> наливают 23 см<sup>3</sup> физиологического раствора (0,9%), прибавляют 1 см<sup>3</sup> фиксатора и после этого 1 см<sup>3</sup> свежей бараньей крови, предварительно дефибринированной 10-минутным встряхиванием со стеклянными бусами и профильтрованной через марлю.

2. Гемолитическая сыворотка приляется в четырехкратном титре; разводится, как обычно, физиологическим раствором (при титре 1:1 000 берут 24,9 см<sup>3</sup> физиологического раствора + 0,1 см<sup>3</sup> гемолитической сыворотки).

3. Приготовление гемолитической системы: содержимое склянки с разведенной гемолитической сывороткой вливают в склянку с приготовлен-



ным разведением бараньей крови, а затем обратно, и таким образом переливают раза 2—3. Смесь оставляют на 20—25 минут при комнатной температуре для сенсибилизации.

4. Кровь больного берут, как обычно, и оставляют на 2 часа при комнатной температуре, после чего стеклянной палочкой отделяют сгусток от стенок и ставят пробирку с кровью в прохладное место. Сыворотку перед постановкой реакции осторожно отсасывают. Реакцию ставят не раньше чем через 8 и не позже чем через 36 часов после взятия крови у больного; гемолизированная кровь не годится.

5. Антиген желательно получать из центральных серологических институтов. Для каждой постановки нужно пользоваться не менее как двумя антигенами.

Антиген для реакции разводится согласно титру.

Постановка реакции. 1. Реакция проводится в объеме 2 см<sup>3</sup>. В три пробирки наливают активную (негретую) сыворотку больного по 0,2 см<sup>3</sup> и прибавляют в первые две пробирки по 0,5 см<sup>3</sup> физиологического раствора и по 0,3 см<sup>3</sup> антигена, разведенного по титру (в одну пробирку — неспецифического, в другую — специфического). В третью пробирку прибавляют только физиологический раствор в количестве 0,8 см<sup>3</sup>. Смесь оставляют при комнатной температуре на 20—25 минут.

2. За это время смесь взбалтывают обычным встряхиванием дважды по 15—20 секунд.

3. После этого прибавляют указанную гемолитическую систему по 1 см<sup>3</sup> во все пробирки.

4. Содержимое пробирок снова встряхивают и пробирки ставят в термостат, если таковой имеется (температура не выше 30°), или оставляют в комнате, если температура в ней не ниже 20—22°.

Результат отмечают через 20—25 минут, но не раньше, чем в контрольной (третьей) пробирке произошел гемолиз.

В случае отсутствия гемолиза в контрольной пробирке реакция повторяется: к 0,2 см<sup>3</sup> исследуемой сыворотки прибавляют по 0,2 см<sup>3</sup> отрицательной сыворотки из той же постановки как явно активной. Физиологического раствора в таком случае приливают на 0,2 см<sup>3</sup> меньше.

К прибавлению свежей отрицательной сыворотки чаще всего приходится прибегать при исследовании сывороток детей до одного года и старше, ввиду частого отсутствия в них комплемента и амбоцептора; то же наблюдается при некоторых болезнях у взрослых.

Крайне желательно одновременно с испытанием сыворотки для контроля производить реакцию и с сыворотками заведомого сифилистика в активной форме и здорового в отношении сифилиса человека.

б) Упрощенный активный метод Вайнштейн-Резниковой. Реакция ставится: 1) с цельной дефибринированной бараньей кровью, но без фиксатора (см. предыдущий метод); 2) кроме того, она ставится и без гемолитической сыворотки.

Баранья кровь: из цельной дефибринированной бараньей крови готовят 1% раствор (20 см<sup>3</sup> физиологического раствора + 0,2 см<sup>3</sup> бараньей крови). Антиген применяется любой вассермановский, но в концентрации в 2—3 раза крепче титра (например, при титре 0,02 на 1 см<sup>3</sup>, берут 0,04—0,06 на 1 см<sup>3</sup>).

Кровь больного берут, как обычно; сохраняют по возможности в прохладном месте. Реакция ставится не позже чем через 24—36 часов после взятия крови.



**Постановка реакции.** Реакция ставится в двух пробирках при работе с одним антигеном, при работе с двумя или тремя антигенами — в 3 или 4 пробирках.

Пробирка первая основная  
0,2 активной сыворотки  
0,3 антигена

Пробирка вторая контрольная  
0,2 активной сыворотки  
0,3 физиологического раствора

Обе пробирки встряхивают 1—2 минуты, после чего в каждую приливают по 0,75 см<sup>3</sup> 10% бараньей крови. Смесь взбалтывают и оставляют на 45—60 минут при комнатной температуре (24—26°). Зимой желательно ставить пробирки в теплое место, но при температуре не выше 30°. Считывание результата производится по наступлении гемолиза в контрольной пробирке.

Результат оценивается как резко положительный, слабо положительный и отрицательный.

В тех случаях, когда в контрольной пробирке не получается гемолиза, реакцию нужно поставить следующим образом: в 2 пробирки наливают по 0,2 см<sup>3</sup> испытуемой сыворотки, затем приливают по 0,2 см<sup>3</sup> нормальной сыворотки, т. е. любой другой сыворотки, которая в этот день при исследовании дала отрицательный результат; добавление нормальной сыворотки восполняет недостаток комплемента и гемолизина в испытуемой сыворотке. В дальнейшем реакцию ставят, как описано выше.

## ОСАДОЧНЫЕ РЕАКЦИИ (РЕАКЦИИ ПРЕЦИПИТАЦИИ)

Эти реакции основаны на выпадении видимого простым глазом хлопьевидного осадка при прибавлении липоидного антигена к сифилитической сыворотке. Техника их значительно проще техники реакции Вассермана, так как, помимо сыворотки больного, для них необходим только один ингредиент — антиген.

Реакции преципитации производятся только с сывороткой крови; правда, они предложены были и для исследования спинномозговой жидкости, но широкого распространения не получили.

В СССР наиболее распространены реакции Кана и цитохолевая реакция Закс-Витебского; значительно распространена также реакция Мейнике (MKR). Антигеном служит алкогольная вытяжка сердца быка, причем Мейнике прибавляет к экстракту толуанский бальзам и бензойную кислоту, Кан и Закс-Витебский — холестерин.

Приготовление этих антигенов сложно и требует большого навыка, ввиду чего желательно получать их готовыми из крупных бактериологических институтов.

1) **Реакция просветления Мейнике (MKR).** Эта модификация принадлежит к наиболее чувствительным реакциям на сифилис.

Антиген готовится из бычьего сердца и содержит толуанский бальзам. Антиген следует сохранять при комнатной температуре, защитив от света; для закупорки нужно употреблять корковые пробки (не резиновые).

Для разведения антигена употребляют 3,5% раствор хлористого натрия, к которому непосредственно перед употреблением прибавляют 1% раствор чистой кристаллической соды: на 9 см<sup>3</sup> раствора хлористого натрия берут 0,2 см<sup>3</sup> раствора соды; 3,5% раствор хлористого натрия готовят из основного более стойкого 10% раствора, смешав 35 частей его с 65 частями дистиллированной воды.



Постановка реакции. Сыворотки (активные) заранее разливают по 0,2 см<sup>3</sup>.

Для разведения антигена непосредственно перед реакцией вливают в одну пробирку 1 см<sup>3</sup> антигена, в другую — 9 см<sup>3</sup> 3,5% хлористого натрия, содержащие 0,2 см<sup>3</sup> 1% раствора соды. Обе пробирки ставят на 10 минут в водяную баню при 45°. Когда жидкости прогрелись, солевой раствор быстро вливают в антиген; получается молочнобелая жидкость. Тотчас же еще теплый антиген приливают по 0,5 см<sup>3</sup> к разлитым заранее сывороткам. Смесь в пробирках тщательно смешивают; жидкость после смешения получается вначале такая же мутная.

Результат учитывают через 18—20 часов (при комнатной температуре). Разница между отрицательным и положительным результатом очень отчетлива.

Отрицательный результат: жидкость молочного цвета, непрозрачная.

Резко положительный результат: полное прояснение жидкости, полное выпадение преципитата.

Слабо положительный результат: частичное просветление жидкости, неполное выпадение преципитата.

2) Цитохолевая реакция Закс-Витебского. В 1928 г. Закс в сотрудничестве с Витебским, используя опыт Кана (см. ниже), ввел применение концентрированного антигена, который дает значительно более быстрое и более грубо дисперсное выпадение. Это видоизменение, позволяющее учитывать результат тотчас же, он назвал цитохолевой реакцией и в отличие от нее свой прежний медленный метод — лентохолевой реакцией (реакция названа им холевой, так как ставится с холестеринизированным антигеном).

Приготовление антигена. Одна весовая часть свежего бычьего сердца экстрагируется 5 объемными частями алкоголя в течение 5—6 часов во встряхивателе; экстракт выпаривается в сушильном шкафу до получения небольшого вязкого маслянистого остатка. К остатку приливают горячего алкоголя в количестве  $\frac{1}{3}$  первоначально взятого объема, все вместе сливают в склянку с притертой пробкой и оставляют на 2—3 суток при комнатной температуре; при этом выпадают хлопья. Спустя указанное время спиртовой экстракт сливают с осадка и прибавляют к нему при нагревании столько холестерина, чтобы содержание последнего составляло 0,3—0,6%. Этот холестеринизированный экстракт и представляет собой антиген. Его разводят в 3 раза 0,85% раствором NaCl и проверяют на заведомо положительных и отрицательных сыворотках.

Ход реакции. Разведение антигена: Одну часть экстракта быстро смешивают с 2 частями физиологического раствора (0,85%), смеси дают постоять до употребления 10 минут.

Постановка опыта. Употребляется сыворотка, инактивированная нагреванием при 55° в течение получаса. 0,2 см<sup>3</sup> сыворотки смешивают с 0,1 см<sup>3</sup> разведенного экстракта, смесь энергично встряхивают 2—3 минуты и оставляют на полчаса при комнатной температуре, после чего прибавляют 1 см<sup>3</sup> физиологического раствора NaCl. Если сыворотки мало, то количество ингредиентов можно уменьшить наполовину.

В контрольных пробирках взамен разведенного экстракта берут разведенный алкоголь. Считывание производят тотчас же или через несколько минут простым глазом или при помощи агглютиноскопа. В положительных случаях получается образование хлопьев или мути.

Закс и Витебский считают возможным производить реакцию микрометодом на предметном стекле или в часовых стеклах, для чего они наливают на стекло 2 части сыворотки (2 капли) и 1 часть (1 капля) разве-



денного экстракта, быстро и тщательно смешивают их и считывают через несколько секунд так же, как агглютинацию бактерий.

3) Реакция Кана. Как и Мейнике, Кан несколько раз видоизменял свою методику. Последняя предложенная им модификация сводится к следующему.

Сыворотка центрифугируется до полной прозрачности, сливается с осадка и инактивируется обязательно в день реакции. Если она была инактивирована ранее, то перед постановкой реакции инаktivирование повторяют в течение 10 минут. Для более отчетливой и быстрой работы в штатив заранее ставят нужное количество пробирок, устанавливая их в 3 ряда; по окончании работы встряхивают штатив вместе с пробирками.

Разведение антигена. Берут две пробирки: в первую наливают физиологический раствор (1,1 или 1 см<sup>3</sup>, в зависимости от указанного на

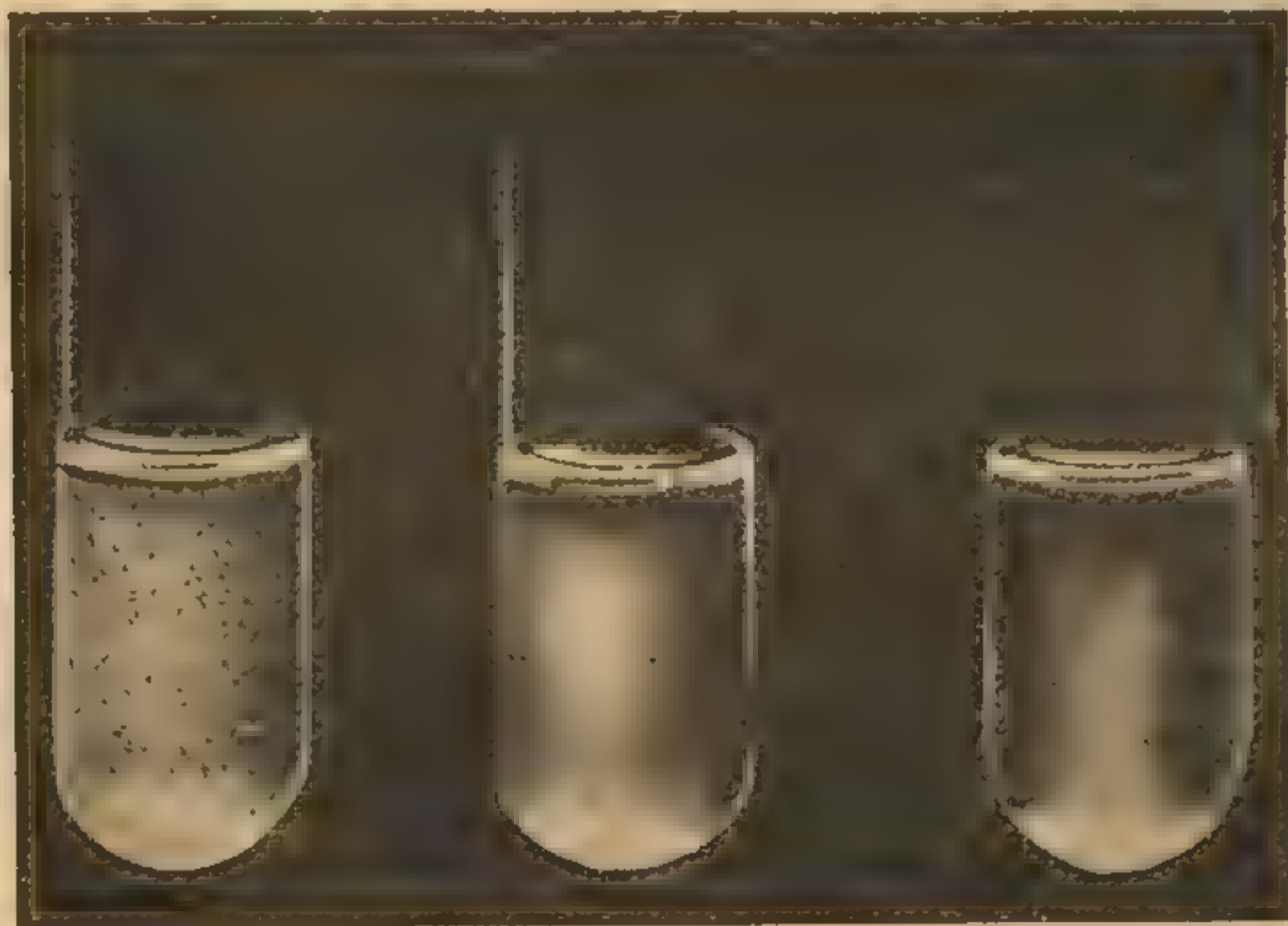


Рис. 51. Результаты реакции Кана. Слева направо 4+, 2+ и отрицательный.

флаконе титра антигена), во вторую 1 см<sup>3</sup> антигена. Содержимое первой пробирки быстро вливают во вторую и, не дожидаясь стекания последней капли, быстро переливают из одной пробирки в другую 6—7 раз. Разведенный таким образом антиген должен стоять 10 минут до употребления для созревания; через 30 минут после его разведения постановка опыта должна быть закончена, так что при постановке большого числа сывороток разведение антигена готовят несколько раз.

Постановка опыта. Разведенный антиген после 10-минутного стояния взбалтывается и наливается пипеткой емкостью 0,2 или 0,1 см<sup>3</sup> с делениями на 0,001 см<sup>3</sup> в три пробирки для каждой исследуемой сыворотки: в первую пробирку — 0,05 см<sup>3</sup>, во вторую — 0,025 см<sup>3</sup>, в третью — 0,0125 см<sup>3</sup>; пипетку при разлировании опускают до дна пробирки, не касаясь стенок. Тотчас же после этого в каждую из трех пробирок наливают по 0,15 см<sup>3</sup> исследуемой сыворотки, сильно встряхивают в течение 3 минут и ставят в термостат минут на 10. Вынув из термостата, доливают в первую пробирку 1,0 см<sup>3</sup>, во вторую и третью — по 0,5 см<sup>3</sup> физиологического раствора, встряхивают и учитывают результат; на завтра результат учитывают вторично. Для его учитывания каждую пробирку вынимают из штатива и, наклоняя ее в ту и другую сторону, в тонком слое улаживают присутствие преципитата; можно также пользоваться вогнутым



зеркальцем микроскопа, причем пробирку держат наклонно на небольшом расстоянии от поверхности зеркала; преципитат рассматривают в отражении.

Во всех положительных случаях для контроля берут 0,1 см<sup>3</sup> сыворотки + 0,3 см<sup>3</sup> физиологического раствора и встряхивают 3 минуты; при этом не должно быть видимых частиц; если частицы имеются, то исследуемая сыворотка вновь центрифугируется, и реакция ставится заново. Силу реакции Кан обозначает крестами (+ + + +, + + + и т. д.); для окончательного результата он выводит среднее арифметическое из результатов, полученных во всех 3 пробирках (рис. 51).

4) **Оценка осадочных реакций.** При всей кажущейся простоте постановка осадочных реакций требует серологического навыка. Считывание результата при этих реакциях более субъективно, чем при реакции Вассермана. Наряду с ясно положительными и отрицательными реакциями, имеется довольно широкая зона неопределенных реакций, оценка которых в значительной степени зависит от регистрирующего лица. Этим объясняется тот факт, что они не смогли вытеснить реакцию Вассермана. Однако обширные наблюдения многочисленных исследователей показывают, что при параллельном исследовании сывороток реакцией Вассермана и осадочными реакциями в громадном большинстве случаев получаются совпадающие результаты. В отдельных случаях отмечено все же и расхождение.

В настоящее время считают установленным, что при серодиагностике сифилиса нельзя ограничиваться одной реакцией, а необходимо ставить по крайней мере две: одной из реакций при этом обязательно должна быть реакция Вассермана. Это вызвано тем обстоятельством, что, с одной стороны, ни одна из предложенных реакций не дает положительного результата во всех без исключения случаях и, с другой стороны, что не исключена возможность неспецифической положительной реакции.

В случае невозможности выполнения указанного комплекса реакций в условиях периферии допускается замена реакции Вассермана одной из более простых модификаций при условии применения двух осадочных реакций. Необходимо отметить, что подобное упрощение до некоторой степени отражается на качестве исследования.

### ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ПРИ СИФИЛИСЕ

Переходя к оценке результатов реакции в различных стадиях сифилиса, нужно отметить следующее. При первичном шанкре реакция в первые недели бывает отрицательной; положительный результат появляется лишь на 5—6-й неделе после заражения. При вторичном сифилисе как в свежих случаях, так и в громадном большинстве случаев при рецидивах реакция дает резко положительный результат. Отрицательный и слабо положительный результат исключает в этих случаях диагноз сифилиса. Исключения составляют случаи со злокачественным течением—*lues maligna*, при которых может наблюдаться и отрицательный результат. Под влиянием лечения сила реакции сначала постепенно ослабевает, потом исчезает окончательно. Поэтому в леченных случаях даже слабо положительные результаты должны быть скорее истолкованы в положительном смысле, чем в отрицательном. Обратное приходится сказать в отношении латентного сифилиса, там, где в анамнезе сифилис с достоверностью не установлен; в таких случаях нужно быть очень осторожным с толкованием слабо положительных результатов. При третичном сифилисе положительный ре-



зультат не так резко выражен и наблюдается не во всех случаях, а лишь в 75—80%. То же нужно сказать о сифилисе внутренних органов, но здесь, как и при латентном сифилисе у больных с неясным анамнезом, нужно помнить, что, как правило, в нелеченных случаях результат бывает ясно положительным. Из поражений нервной системы прогрессивный паралич дает резко положительный результат почти в 100%; слабее и менее постоянна реакция при сухотке спинного мозга и при сифилисе центральной нервной системы в узком смысле слова. Во всех случаях, где подозревается сифилис центральной нервной системы, необходимо, наряду с исследованием крови, производить исследование спинномозговой жидкости, так как нередко реакция в крови может быть отрицательной, а в спинномозговой жидкости — положительной. Что касается неспецифических положительных результатов, то выше уже было указано, что таковые наблюдаются при раке, тяжелых лихорадочных заболеваниях (пневмония, сыпной тиф), малярии и др. У здоровых ясно положительная реакция не наблюдается.

### РЕАКЦИЯ ВЕЙНБЕРГА ПРИ ЭХИНОКОККОЗЕ

Постановкой опыта, как и при реакции Вассермана (см. выше), Вейнберг предложил пользоваться для диагноза эхинококкоза.

В качестве антигена берут жидкость из эхинококкового пузыря барана или другого животного, добытую асептическим путем. К жидкости прибавляют 0,5% карболовой кислоты и выдерживают 2—3 месяца, после чего титруют, т. е. устанавливают высшую ее дозу, которая, будучи смешана с комплементом и гемолитической системой, еще не даст задержки гемолиза (табл. 11).

Таблица 11

Схема титрования антигена

№ пробирки	Антиген эхинококковый (в см <sup>3</sup> )	Физиологический раствор (в см <sup>3</sup> )	Комплемент (рабочая доза в 0,5 см <sup>3</sup> )	Инкубация	Гемолитическая смесь (в см <sup>3</sup> )	Инкубация
1	0,1	0,9	0,5	В термостат на 45 минут — 1 час	1,0	В термостат на 45 минут — 1 час
2	0,2	0,8	0,5		1,0	
3	0,3	0,7	0,5		1,0	
4	0,4	0,6	0,5		1,0	
5	0,5	0,5	0,5		1,0	
6	0,6	0,4	0,5		1,0	
7	0,7	0,3	0,5		1,0	
8	0,8	0,2	0,5		1,0	
9	0,9	0,1	0,5		1,0	
10	1,0	—	0,5		1,0	

Если 0,6 см<sup>3</sup> представляет эту высшую дозу, то для дальнейшей работы берут половину этой дозы, т. е. 0,3 см<sup>3</sup>, и проверяют ее на ряде сывороток от людей здоровых и больных не эхинококкозом, а другими заболеваниями (например, сифилисом); с такого рода сыворотками она не должна давать задержки гемолиза.

От контроля с положительной заведомо эхинской сывороткой приходится отказаться, так как ее очень трудно достать. Из табл. 12 видно, что проверка антигена ставится с тремя дозами каждой сыворотки. По этой же схеме ставится и основной опыт (табл. 13), с той только разницей, что: 1) опыт ставят как с инактивированной сывороткой, так и



с неинактивированной, 2) исследуемая сыворотка ставится одновременно и с сифилитическим антигеном по обычной схеме.

Необходимо отметить, что реакция мало чувствительна и отрицательный результат ее не исключает заболевания эхинококком.

Таблица 12

Проверка антигена с сывороткой

№ про- сир- ки	Антиген эхинокок- ковый (в см <sup>3</sup> )	Сыво- ротка (в см <sup>3</sup> )	Физиоло- гический раствор (в см <sup>3</sup> )	Комплемент (рабочая до- за в 0,5 см <sup>3</sup> )	Инкубация	Гемолити- ческая смесь (в см <sup>3</sup> )	Инкубация
1	0,3	0,1	0,6	0,5	В термостат	1,0	В термостат
2	0,3	0,25	0,45	0,5	на 45 ми- нут — 1 час	1,0	на 45 ми- нут — 1 час
3	0,3	0,5	0,2	0,5		1,0	

Таблица 13

Основной опыт

	Исследуемая сыворотка (в см <sup>3</sup> )	Физиологиче- ский раствор (в см <sup>3</sup> )	Антиген эхи- нококковый (в см <sup>3</sup> )	Комплемент (рабочая доза в 0,5 см <sup>3</sup> )	Инку- бация	Гемолитическая смесь (в см <sup>3</sup> )	Инку- бация
Сыворотка ин- активирован- ная	0,1 0,25 0,5 0,5 (конт- рольная)	0,6 0,45 0,2 0,5	0,3 0,3 0,3 —	0,5 0,5 0,5 0,5	В термостат на 45 ми- нут — 1 час	1,0 1,0 1,0 1,0	В термостат на 45 ми- нут — 1 час
Сыворотка не- инактивирован- ная	0,1 0,25 0,5 0,5 (конт- рольная)	0,6 0,45 0,2 0,5	0,3 0,3 0,3 —	0,5 0,5 0,5 0,5	В термостат на 45 ми- нут — 1 час	1,0 1,0 1,0 1,0	В термостат на 45 ми- нут — 1 час

## РЕАКЦИЯ БОРДЕ-ЖАНГУ ПРИ ГОНОРРЕЕ

Реакция связывания комплемента при гоноррее имеет диагностическое значение главным образом в случаях острых или хронических осложнений. Положительный результат при острых осложнениях отмечен в 81% случаев. При уретритах как острых, так и хронических она, как правило, дает отрицательный результат.

Непременным условием при выполнении реакции является употребление хорошего антигена. Антиген должен быть поливалентен, т. е. приготовлен из нескольких штаммов гонококка; при этом важно, чтобы культуры были свежие, недавно выделенные из организма.

Антиген, приготовленный обычным способом, т. е. эмульсия бактерий в физиологическом растворе, по наблюдениям Финкельштейна, дает сравнительно небольшой процент положительных результатов. Лучшие результаты, по тому же автору, дает эмульсия, приготовленная на дистиллированной воде. С этой целью суточную агаровую культуру нескольких штаммов смывают 5—6 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, смешивают; эмульсию оставляют на сутки при 60°, после чего подвергают



встряхиванию во встряхивающем аппарате в течение 2 суток (можно заменить ручным встряхиванием в делительной воронке с перерывами); затем центрифугируют, сливают жидкость с осадка и прибавляют к ней фенол из расчета 0,5%. Очень хорошие результаты дают также антигены, приготовленные при помощи антиформина (см. специальные руководства). Наконец, можно пользоваться в качестве антигена гонококковой вакциной.

**Титрование антигена.** Антиген необходимо протитровать. Титрование производится примерно по той же схеме, что и при реакции Вассермана. Но так как титр бактериальных антигенов обычно не так высок, то при титровании сначала берут неразведенный антиген, наливая в ряд пробирок убывающие дозы (0,5, 0,25, 0,1 см<sup>3</sup>); в дальнейшем, если нужно, переходят к разведенному антигену. Титр антиформинного антигена более высок. Для его титрования готовят ряд разведений, соответствующих содержанию 0,03, 0,06, 0,09 в 0,5 см<sup>3</sup> (табл. 14).

Таблица 14

Титрование антиформинного антигена по Финкельштейну

№ пробирки	Антиген (в см <sup>3</sup> )	Физиологический раствор (в см <sup>3</sup> )	Рабочая доза в 0,5 см <sup>3</sup>	Инкубация	Гемолитическая смесь (сенсibilизированная) (в см <sup>3</sup> )	Инкубация	Результат
1	0,5 (0,03) <sup>1</sup>	0,5	0,5	В термостат на 30 минут	1,0	В термостат на 1 час	Полный гемолиз
2	0,5 (0,06)	0,5	0,5		1,0		То же
3	0,5 (0,09)	0,5	0,5		1,0		» »
4	0,5 (0,12)	0,5	0,5		1,0		» »
5	0,5 (0,15)	0,5	0,5		1,0		» »
6	0,5 (0,18)	0,5	0,5		1,0		Частичная задержка гемолиза
7	0,5 (0,21)	0,5	0,5		1,0		
8	0,5 (0,24)	0,5	0,5	В термостат на 1 час	1,0	В термостат на 1 час	Полная задержка гемолиза
9	0,5 (0,30)	0,5	0,5		1,0		То же
10	0,5 (0,33)	0,5	0,5		1,0		» »

В данной схеме антиген в количестве 0,21 уже частично задерживает гемолиз. В качестве рабочей дозы берут  $\frac{2}{3}$  этой дозы, что в данном случае составит 0,14 ( $0,21 \cdot \frac{2}{3} = 0,14$ ).

Определив таким образом рабочую дозу, нужно проверить, не обладает ли антиген сам по себе гемолитическими свойствами. Проверка производится по следующей схеме (табл. 15а).

Таблица 15а

Антиген (в см <sup>3</sup> )	Эритроциты (в см <sup>3</sup> )	Физиологический раствор (в см <sup>3</sup> )	Инкубация	Результат
0,5 (0,21)	0,5	1,5	В термостат на 1 час	Полная задержка гемолиза
0,5 (0,14)	0,5	1,5		То же

При постановке опыта (табл. 15б) приходится отказаться от контроля с заведомо гонорройной положительной сывороткой, так как такую

<sup>1</sup> В скобках показано содержание неразведенного антигена в 0,5 см<sup>3</sup>.



	Сыворотка (в см <sup>3</sup> )	Физиологический раствор (в см <sup>3</sup> )	Антиген разведение по титру (в см <sup>3</sup> )	Комплемент(рабо- чая доза в 0,5 см <sup>3</sup> )	Инку- бация	Гемолитиче- ская смесь (сенсibilизи- рованная) (в см <sup>3</sup> )	И-ку- бация	Результат
Испытуемая сыворотка	{0,1	0,4	0,5	0,5	В термостат на 1 час	1,0	В термостат на 45 минут — 1 час	В зависимо- сти от диа- гноза
Нормальная сыворотка	{0,1	0,9	—	0,5		1,0		
	{0,1	0,4	0,5	0,5		1,0		Полн. гем. То же , ,
	{0,1	0,9	—	0,5		1,0		

сыворотку достать трудно; но необходимо ставить контроль с 2—3 нормальными сыворотками, которые не должны давать ни малейшей задержки гемолиза.

### РЕАКЦИЯ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА ПРИ РИНОСКЛЕРОМЕ

Реакция связывания комплемента представляет единственный лабораторный метод диагностики риносклеромы. Она дает положительный результат почти во всех случаях заболевания.

Изготовление антигена. К 18—24-часовой агаровой культуре палочки склеромы прибавляют 5—6 см<sup>3</sup> физиологического раствора поваренной соли; после эмульгирования культуры мутная взвесь переливается в стерильную пробирку и кипятится на водяной бане 5 минут.

Затем антиген титруется, т. е. определяется максимальная доза, которая еще не дает задержки гемолиза; для этого в ряд пробирок наливают убывающие дозы — 0,25, 0,15 и 0,05 см<sup>3</sup> — неразведенной бактериальной эмульсии и такие же количества эмульсии, разведенной в 10 раз; в каждую пробирку приливают по 0,25 см<sup>3</sup> комплемента (разведенного в 10 раз) и по 0,25 см<sup>3</sup> инактивированной нормальной сыворотки, разведенной в 5 раз. Пробирки ставят на 1 час в термостат, после чего прибавляют по 0,5 гемолитической смеси; вновь ставят в термостат и спустя час считывают результат.

Постановка основного опыта. Опыт ставится не с одной дозой антигена, а с несколькими. В 4—5 пробирок наливают: 1) убывающие дозы антигена, начиная с максимальной дозы, не дающей задержки гемолиза; обычно берут 0,25, 0,15 и 0,05 см<sup>3</sup> антигена, разведенного в 10 раз, 2) 0,25 см<sup>3</sup> инактивированной испытуемой сыворотки, разведенной в 5 раз, 3) 0,25 комплемента, разведенного по титру, и доливают физиологическим раствором до 0,75 см<sup>3</sup>. В качестве контроля ставят несколько нормальных сывороток. Все помещают на 45 минут—1 час в термостат; вынув из термостата, приливают по 0,5 сенсibilизированной гемолитической смеси и вторично ставят в термостат. Результат реакции определяется, когда в контрольных пробирках получается гемолиз.

### РЕАКЦИЯ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА ПРИ БРУЦЕЛЛЕЗЕ

Реакция связывания комплемента является, наряду с реакцией агглютинации, ценным диагностическим методом при бруцеллезе, так как дает не меньшее число положительных результатов. Однако методика ее значительно сложнее методики реакции агглютинации, и потому при массовых обследованиях последняя имеет значительные преимущества.



Реакция связывания комплемента ставится примерно по той же схеме, что и реакция Вассермана. Употребляется сыворотка больного, инактивированная нагреванием при  $56^{\circ}$  в течение получаса.

Антигеном может служить взвесь убитых бактерий, изготавливаемая большими бактериологическими институтами для реакции агглютинации. Такую бактериальную эмульсию необходимо протитровать с несколькими нормальными сыворотками. Цель титрования — определение максимальной дозы антигена, не дающей задержки гемолиза с нормальными сыворотками. При титровании эмульсию обычно приходится разводить физиологическим раствором в 5—10 раз, в зависимости от густоты ее (табл. 16).

Таблица 16

Примерная схема титрования антигена

Нормальная сыворотка (в см <sup>3</sup> )	Антиген разведенный (в см <sup>3</sup> )	Комплект (рабочая доза в 0,5 см <sup>3</sup> )	Физиологический раствор (в см <sup>3</sup> )	Инкубация	Гемолитическая смесь (сенсibilизированная) (в см <sup>3</sup> )	Инкубация	Результат
0,1 <sup>1</sup>	1,0	0,5	0,0	В термостат на 45 минут — 1 час	1,0	В термостат на 45 минут — 1 час	Задержка гемолиза
0,1	0,8	0,5	0,1		1,0		То же
0,1	0,6	0,5	0,3		1,0		» »
0,1	0,4	0,5	0,5		1,0		Полный гемолиз
0,1	0,2	0,5	0,7		1,0		То же
0,1	0,1	0,5	0,8		1,0		» »

В приведенной схеме максимальная доза антигена, не задерживающая гемолиза, — 0,4 см<sup>3</sup> (из разведения 1:5 или 1:10). Для реакции в качестве рабочей дозы берут половину этой максимальной дозы, т. е. 0,2 см<sup>3</sup> соответствующего разведения антигена. Желательно ставить реакцию с двумя дозами антигена: с рабочей дозой и с наполовину меньшей дозой (в приведенном примере с 0,2 см<sup>3</sup> и 0,1 см<sup>3</sup> разведенного антигена). Такая постановка рекомендуется, чтобы избежать неспецифических результатов, которые изредка наблюдаются. Основной опыт ставится по той же схеме, что и титрование антигена. Параллельно с испытуемой сывороткой необходимо ставить контроль с нормальной сывороткой. В целях экономии в настоящее время реакцию ставят обычно в общем объеме 1,25 см<sup>3</sup>, т. е. с половинными дозами всех ингредиентов.

### РЕАКЦИЯ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА С ДРУГИМИ БАКТЕРИАЛЬНЫМИ АНТИГЕНАМИ

Реакция связывания комплемента с другими бактериальными антигенами ставится по такой же схеме, как реакция при риносклероме, гоноррее и бруцеллезе. Кроме контроля с нормальными сыворотками, желательно ставить также контроль со специфическими сыворотками, где это возможно.

### РЕАКЦИЯ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА ПРИ ЦИСТИЦЕРКОЗЕ

Предложенная Вейнбергом в 1909 г. реакция связывания комплемента для распознавания цистицеркоза была модифицирована Бобровым и Возной в 1938 г.<sup>2</sup> Постановка реакции аналогична реакции Вассермана.

<sup>1</sup> Или 0,5 см<sup>3</sup> разведенной в 5 раз.

<sup>2</sup> Бобров и Возная. Вопросы нейрохирургии, 1939.



В качестве антигена применяется экстракт из пораженной цистицерками мышечной ткани (по Возной). Свежие мышцы свиньи, богатые прозрачными (необызвествленными) пузырьками цистицерка, тщательно очищают от жира, режут ломтями и в плоской стеклянной посуде подвергают аутолизу в термостате при температуре 50—60° в течение суток. Затем на стеклянных пластинах высушивают в этом же термостате. Высушенный материал в фарфоровой ступке стирают в порошок и настаивают с 96° спиртом (взяв на 1 весовую часть порошка 5 объемных частей спирта) 2—3 дня в термостате при 37°, после чего оставляют для созревания при комнатной температуре, встряхивая ежедневно по нескольку раз. Через месяц антиген готов к употреблению. Хранить его следует в темной склянке при комнатной температуре в месте, защищенном от света. Титр антигена устанавливается, так же как и титр специфического экстракта при реакции Вассермана, на заведомо положительных и отрицательных сыворотках. Срок годности антигена довольно велик. При стоянии активность его повышается.

Реакция ставится с инактивированными сыворотками и активной (негретой) спинномозговой жидкостью.

Установив обычным способом рабочую дозу комплемента, дополнительно проверяют ее для каждой испытуемой сыворотки и спинномозговой жидкости с учетом фактора времени по Калинину и Гинзбург (см. «Модификация реакции связывания комплемента»). Почти для каждой испытуемой сыворотки или спинномозговой жидкости может потребоваться индивидуальная рабочая доза комплемента.

Затем нужно дополнительно проверить титр антигена. Для этого к антигену, взятому в одинарной и двойной рабочей дозе, приливают вытитрованную дозу комплемента и ставят в термостат на 1 час. Через час приливают по 1 см<sup>3</sup> гемолитической смеси, выдержанной предварительно полчаса в термостате, и вторично ставят в термостат. Результат реакции учитывают через полчаса. Ни одинарная, ни двойная доз антигена не должна давать задержки гемолиза. При наличии задержки готовят раствор антигена несколько меньшей концентрации (например, 1:65 или 1:62 вместо 1:60 при частичной задержке; 1:60 вместо 1:50 при полной задержке).

Главный опыт ставится по той же схеме, что и реакция Вассермана, и результат его регистрируется таким же способом.

Реакция имеет несомненное диагностическое значение. Совпадение с клиническим диагнозом, подтвержденным хирургическим вмешательством или патологоанатомическими данными, наблюдается свыше чем в 80% случаев.

### МОДИФИКАЦИИ РЕАКЦИИ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА

Многочисленные попытки модифицировать реакцию связывания комплемента касались как точного выбора рабочей дозы комплемента, так и количественного учета реакций. Установление рабочей дозы антигена имеет наибольшее значение для правильного течения реакций. Избыток комплемента в реакции сопровождается ослаблением специфических свойств и может привести к потере слабо положительного результата. Недостаточное количество комплемента является причиной появления задержек гемолиза в контролях, вследствие чего исключается возможность точного учета действительных результатов реакции.

Учитывая это обстоятельство, рядом авторов были предложены различные, более точные методы определения рабочей дозы комплемента.

1) Модификация Калинина и Гинзбург — метод факториального титрования комплемента. Для более точного определения рабочей дозы



комплемента использован фактор времени, в течение которого происходит гемолиз. Для этого сначала производится обычно титрование комплемента по описанной схеме. Затем устанавливается рабочая доза комплемента путем надбавки в размере 20—40% к его титру.

В три пробирки отмеривают по 0,5 см<sup>3</sup> трех разведенных соответствующим образом испытуемых сывороток. Если исследуется сыворотка больного, то в разведении 1:5; если же речь идет об определении антигена в присутствии специфических сывороток животных, то в разведении 1:20. Затем во все пробирки добавляют рабочую дозу комплемента и жидкость в пробирках доводят физиологическим раствором до объема 1,5 см<sup>3</sup>, после чего добавляют по 1 см<sup>3</sup> гемолитической смеси, которая предварительно в течение 30 минут выдерживалась в термостате. После добавления смеси пробирки помещают на 30 минут в термостат, причем результат регистрируют через 10, 20 и 30 минут. Если по истечении 10 минут наблюдается полная задержка гемолиза, а через 20 минут — полный гемолиз, то испытуемая рабочая доза является достаточной.

Если же через 10 минут во всех пробирках наблюдается гемолиз или же слабая задержка последнего в размере (+) или (+ +), то рабочая доза комплемента велика и нуждается в уменьшении на 0,02—0,04 см<sup>3</sup>. Если же хотя бы в одной или двух пробирках по истечении 20 минут не появляется полный гемолиз, то рабочая доза недостаточна и требуется ее увеличение на 0,02—0,04 см<sup>3</sup>. Подобная проверка рабочей дозы комплемента оказывается вполне достаточной для суждения о ее пригодности. Кроме того, схема предусматривает испытание антикомплементарных свойств испытуемых сывороток, а при условии введения антигена также и свойств последнего (табл. 17).

Таблица 17

Схема факториального титрования рабочей дозы комплемента

№ пробирки	Сыворотка (в см <sup>3</sup> )	Физиологический раствор (в см <sup>3</sup> )	Рабочая доза комплемента (в см <sup>3</sup> )	Гемолитическая смесь (в см <sup>3</sup> )	Термостат			Результаты
					10 мин	20 мин	30 мин	
1	0,1(1)	0,9	0,5	1,0	+++ <sup>1</sup>	—	— <sup>3</sup>	Доза достаточна
2	0,1(2)	0,9	0,5	1,0	+++ <sup>1</sup>	—	— <sup>3</sup>	
3	0,1(3)	0,9	0,5	1,0	+++ <sup>1</sup>	—	— <sup>3</sup>	

2) Модификация Каупа. Для определения антагонистических влияний, оказываемых на активность комплемента со стороны антигена и сыворотки, кроме титрования комплемента *per se*, производится титрование его в присутствии рабочей дозы антигена и нормальной сыворотки по схеме, описанной выше, с той разницей, что при титровании Кауп вводит более дробные дозы комплемента: 0,04; 0,06; 0,08; 0,1; 0,12; 0,15; 0,2; 0,25; 0,3 см<sup>3</sup>. Найденная описанным титрованием доза принимается за единицу комплемента, и реакция ставится не с одной, а с 3 или 4 дозами комплемента, т. е. с ординарной, полуторной, двойной, а иногда и с тройной дозой комплемента, определенной титрованием, причем соответственно уменьшается объем приливаемого физиологического раствора.

Испытание этого метода установило его преимущества в смысле повышения чувствительности реакции. Однако необходимо отметить, что

- <sup>1</sup> Полная задержка гемолиза.
- <sup>2</sup> Частичная задержка гемолиза.
- <sup>3</sup> Полный гемолиз.



введение в реакцию 4 доз комплемента значительно усложняет технику ее постановки, так как число опытных пробирок увеличивается в 4 раза и требуется большее количество испытуемого материала.

3) **Длительное холодное связывание комплемента.** Рядом авторов было установлено, что чувствительность реакции связывания комплемента может быть повышена, если первая фаза реакции, т. е. связывание комплемента, будет происходить при  $0-4^{\circ}$ , так как понижение температуры вызывает усиление адсорбции комплемента.

Иоффе с сотрудниками применил этот метод при изучении свойств сывороток и антигенов при различных инфекциях. Для этого ими производится титрование комплемента по Каупу, как описано выше. Затем первая фаза реакции с тремя дозами комплемента выдерживается при  $0-4^{\circ}$  в течение 18 часов, а после добавления гемолитической смеси опыт выдерживается в термостате, как обычно.

Калинин и Гинзбург производят реакцию на холоду следующим образом. Определив факториальным титрованием рабочую дозу комплемента, делают 15—20% надбавку к ней и эту дозу вводят в реакцию, первая фаза которой производится при  $0-4^{\circ}$  в течение 16—18 часов; в остальной реакции ставится, как обычно.

Применение длительного холодного связывания комплемента повышает чувствительность реакции, и в случае наличия небольшого количества антигена или антител в испытуемом материале этот метод обладает большей эффективностью.

4) **Количественные методы реакции связывания комплемента.** Ряд модификаций был выработан для точного количественного учета реакции. Так, Сормани предлагает пользоваться одной дозой сыворотки и пятью различными дозами антигена. В случае определения бактериального антигена он берет иммунную сыворотку в разведении 1:20 и антиген с содержанием 1 млрд. — 500 млн. — 250 млн. — 125 млн. и 62 млн. микробных тел. По минимальному количеству антигена, дающему положительную реакцию, можно судить о качестве антигена и сыворотки. Можно также ставить реакцию по обычной схеме с падающими дозами сыворотки при постоянной дозе антигена (метод Боаса). В случае испытания сыворотки человека употребляются следующие разведения сыворотки: 1:5; 1:10; 1:20; 1:40; 1:80; 1:160, что соответствует содержанию 0,1—0,05—0,025—0,0125—0,006 и 0,003 см<sup>3</sup> неразведенной сыворотки в 0,5 см<sup>3</sup>. При исследовании сывороток иммунных животных, в частности, кролика, разведения могут быть следующие: 1:20; 1:40; 1:80; 1:160; 1:320; 1:640; по максимальному разведению сыворотки, дающему положительную реакцию, можно судить о качестве сывороток и антигена. При количественной постановке реакции Вассермана обычно пользуются способом Боаса.

### **РЕАКЦИЯ ПАУЛЬ-БУННЕЛЯ ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ МОНОНУКЛЕОЗЕ** (реакция гетерогемагглютинации, реакция на гетерофильные антитела)

Реакция, примененная при инфекционном мононуклеозе Паулем и Буннелем в 1932 г., основана на том, что в крови человека в известных случаях происходит нарастание гемагглютининов по отношению к эритроцитам барана, морской свинки и кролика.

Кровяная сыворотка здоровых агглютинирует бараньи эритроциты в громадном большинстве случаев в разведении не выше 1:20; но в некоторых случаях (примерно в 1%) у здоровых наблюдается агглютинация в разведении 1:56. Поэтому реакцию нужно считать положительной, если титр сыворотки исследуемого больного не ниже 1:56. При инфекцион-



ном мононуклеозе титр обычно резко повышен. Описан ряд случаев повышения его до 1:1792, 1:3584 и даже 1:7168.

Реакция дает положительный результат при инфекционном мононуклеозе почти в 100% случаев. При различных других заболеваниях (лимфатическая лейкемия, агранулоцитоз и т. д.) реакция всегда дает отрицательный результат. Положительный результат может наблюдаться после введения лошадиной сыворотки (антитоксической или нормальной) и держаться около года. Это обстоятельство приходится иметь в виду при оценке результата реакции.

**Техника реакции.** Реакция ставится с инактивированной сывороткой; применяется 3% эмульсия эритроцитов из отмытых эритроцитов (из осадка).

В ряд пробирок наливают физиологический раствор: в первую пробирку — 1,5 см<sup>3</sup>, а в остальные — по 1 см<sup>3</sup>. Далее, в первую пробирку приливают 0,5 см<sup>3</sup> инактивированной сыворотки, перемешивают содержимое пробирки и переносят из него 1 см<sup>3</sup> во вторую пробирку; из второй пробирки также переносят 1 см<sup>3</sup> в третью и т. д. Из последнего разведения 1 см<sup>3</sup> выливают. Получаются разведения сыворотки 1:4; 1:8; 1:16 и т. д. Содержимое каждой пробирки равно 1 см<sup>3</sup>; во все пробирки приливают по 1 см<sup>3</sup> эмульсии эритроцитов, смесь энергично встряхивают и ставят в термостат при 37° на 2 часа, затем оставляют в леднике или холодном месте на 12 часов, после чего учитывают результат. При положительном результате на дне пробирки образуется плотный комок эритроцитов, который при встряхивании отделяется от дна, но не разбалтывается (табл. 18).

Таблица 18

Схема реакции

№ пробирки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Степень разведения	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048
Физиологический раствор (в см <sup>3</sup> )	1,5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Сыворотка (в см <sup>3</sup> )	0,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Эмульсия эритроцитов 3% (в см <sup>3</sup> )	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Параллельно с исследуемой сывороткой необходимо ставить по той же схеме 1—2 контрольные сыворотки; при этом можно ограничиваться постановкой первых 5 пробирок.

#### ГЛАВА ЧЕТВЕРТАЯ

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГРУПП КРОВИ

В 1900 г. Ландштейнером было установлено, что при смешении эритроцитов одного человека с сывороткой другого часто получается агглютинация эритроцитов. Наблюдение это послужило толчком к массо-

<sup>1</sup> Знак — означает, что 1 см<sup>3</sup> содержимого из предыдущей пробирки переносят в следующую.



вым исследованиям, в результате которых оказалось, что все люди могут быть разделены на четыре группы. Принадлежность к определенной группе есть свойство постоянное, не изменяющееся в течение всей жизни. Дунгерн и Гиршфельд, разработавшие в дальнейшем учение Ландштейнера, рассматривают агглютинацию как реакцию антиген — антитело. Антиген (агглютиноген) содержится в эритроцитах, а также в других клетках и жидкостях организма; антитело (агглютинин) — в сыворотке. Дунгерн и Гиршфельд признают существование двух самостоятельных агглютиногенов в эритроцитах: каждый из них может содержаться отдельно, либо оба вместе, либо оба могут отсутствовать. Сыворотка содержит соответствующие антитела. Антигены обозначаются латинскими буквами А и В, антитела — греческими  $\alpha$  и  $\beta$ . Предложены были три классификации групп: 1) Мосса, 2) Янского и 3) Дунгерн-Гиршфельда. Последняя в настоящее время наиболее употребительна.

Номенклатура групп по различным классификациям:

Мосс . . . . .	IV	II	III	I
Янский . . . . .	I	II	III	IV
Дунгерн-Гиршфельд . . . . .	0 ( $\alpha\beta$ )	A ( $\beta$ )	B ( $\alpha$ )	AB (o)

### ГРУППЫ КРОВИ СИСТЕМЫ О, А, В, АВ.

1) Характеристика групп. а) Группа 0 ( $\alpha\beta$ ). Эритроциты лишены агглютиногенов, поэтому ни одна сыворотка их не агглютинирует. Сыворотка содержит оба агглютинина  $\alpha$  и  $\beta$  и агглютинирует эритроциты остальных трех групп.

б) Группа А ( $\beta$ ). Эритроциты содержат агглютиноген А и агглютинируются сыворотками тех групп, которые содержат соответствующий агглютинин  $\alpha$ , т. е. группами 0 и В. Сыворотка содержит агглютинин  $\beta$  и агглютинирует эритроциты групп, содержащих агглютиноген В, т. е. группы В и АВ.

в) Группа В ( $\alpha$ ). Эритроциты содержат агглютиноген В и агглютинируются сыворотками с агглютинином  $\beta$ , т. е. группами 0 и А. Сыворотка содержит агглютинин  $\alpha$  и агглютинирует эритроциты групп, содержащих агглютиноген А, т. е. группы А и АВ.

г) Группа АВ (o). Эритроциты содержат оба агглютиногена А и В и агглютинируются сыворотками остальных 3 групп, т. е. 0, А и В. Сыворотка совершенно лишена агглютининов и не агглютинирует эритроцитов ни одной из групп (табл. 19).

Таблица 19

Соотношение эритроцитов и сывороток различных групп

Эритроциты	Сыворотки			
	0 $\alpha\beta$ (I)	A $\beta$ (II)	B $\alpha$ (III)	ABo (IV)
0 (I) . . . . .	—	—	—	—
A (II) . . . . .	+	—	+	—
B (III) . . . . .	+	+	—	—
AB (IV) . . . . .	+	+	+	—

2) Методика определения сводится к прямому опыту — смешению эритроцитов реципиента со стандартными сыворотками и наблюдению за происходящей агглютинацией и к обратному опыту — смешению сыворотки (или плазмы) реципиента с эритроцитами групп А, В и 0.



а) Эритроциты исследуемого лица добывают уколом из мякоти пальца. Кровь собирают в агглютинационную пробирку, предварительно налив туда несколько капель 3,8% раствора лимоннокислого натрия. Количество приливаемой крови должно быть в 3—4 раза больше объема раствора лимоннокислого натрия. Получается густая взвесь эритроцитов, из которой для прямого опыта берут 2 капли. Оставшаяся масса центрифугируется, и полученная цитратная плазма употребляется для обратного опыта. Если желают иметь отдельно эритроциты и сыворотку (что удобнее, если почему-либо реакцию приходится повторять), то кровь берут в 2 пробирки: одну с цитратом, другую без цитрата.

б) Стандартные сыворотки изготавливаются в специальных гематологических институтах и отпускаются в ампулах. Они должны удовлетворять следующим требованиям. Агглютинация с соответствующими эритроцитами должна появляться через 15—20 секунд; через 2 минуты она должна быть четкой. Если проверка ставится с эритроцитами А, В и 0, то сыворотка группы А должна в течение 1—3 минут отчетливо агглютинировать только эритроциты группы В, сыворотка группы В — только эритроциты группы А, сыворотка группы 0 — эритроциты А и В; ни одна из сывороток не должна в течение 5 минут агглютинировать эритроциты группы 0.

Сыворотки необходимо проверять каждые 15 дней с кровью лиц групп 0, А и В. Титр сыворотки должен быть не ниже 1:32. Определение титра производится на тарелке капельным способом.

Окрашенные сыворотки. Институт переливания крови изготавливает также окрашенные сыворотки. Сыворотка группы В окрашивается эозином, сыворотка группы А — зеленой или синей краской, сыворотка группы 0 остается неокрашенной.

Хранить сыворотки нужно в прохладном месте, при температуре не выше 20°, защитив их от света (лучше всего в закрытом ящике).

Для определения необходимо иметь в своем распоряжении две серии сывороток группы А, группы В и группы 0.

в) Стандартные эритроциты. Чтобы получить нужные для реакции эритроциты группы А и В, необходимо иметь в своем распоряжении соответствующих доноров. Обычно среди сотрудников лаборатории находятся лица, принадлежащие к этим группам. Определив заранее принадлежность их к той или иной группе, берут у них кровь по мере необходимости.

Описан также способ приготовления стабильных эритроцитов. Он сводится к следующему: сделав укол пальца, предварительно тщательно обтертого спиртом, берут 5 капель крови и смешивают с 1 см<sup>3</sup> стерильного физиологического раствора, к которому прибавлена 1 капля стерильного 5% раствора лимоннокислого натрия. Для приготовления эритроцитов можно также пользоваться стерильно взятой цитратной кровью. Стандартные эритроциты насасывают в стерильные капилляры. Предварительно стерильно отсасывают часть плазмы для получения более густой эмульсии. Трубки наполняют с таким расчетом, чтобы на обоих концах оставалось не менее 2 см незаполненного пространства. Трубки запаивают и хранят в горизонтальном положении. Перед тем как открыть капилляр, содержимое его встряхивают, затем отпиливают оба конца и спускают содержимое прямо на стекло или тарелку. Раскрытый капилляр годен только один день.

г) Ход определения. Прямой опыт. Реакцию можно производить на предметных стеклах и на тарелках; капли наносят всегда в одном и том же порядке. При работе на стеклах принят следующий порядок: слева сыворотка группы А, далее сыворотка группы В (приблизительно



в середине стекла) и сыворотка группы 0 — направо. При работе на тарелках сыворотку группы А наносят налево, сыворотку группы В — направо, группы 0 — в середине. На предметное стекло тремя разными пастеровскими пипетками наносят по одной капле стандартных сывороток А, В и 0. Капли должны быть величиной с серебряный гривенник. К каждой капле или, лучше, вплотную около каждой капли наносят капельки исследуемой крови (цельная кровь из укола или цитратная эмульсия) величиной с булавочную головку. При прибавлении крови нужно следить, чтобы пипетка с кровью не прикасалась к сыворотке. Сыворотка и кровь перемешиваются покачиванием стекла в течение 1—1½ минут. Можно также размешивать тремя разными углами чистого предметного стекла, после чего произвести покачивание. После смешивания капли должны иметь яснокрасный цвет. При наблюдении в первую очередь обращают внимание на сыворотку группы 0; если в нулевой сыворотке наступила агглютинация, то она обязательно должна появиться или в сыворотке группы А, или в сыворотке группы В, или в той и другой. Если нулевая сыворотка агглютинации не дает, то не должно быть агглютинации и с другими сыворотками — эритроциты принадлежат к группе 0.

При наличии агглютинации обычно через 1—2 минуты простым глазом заметно образование мелких красных крупинок, которые в дальнейшем постепенно увеличиваются. Однако рекомендуется считать результат через 5 минут; после этого прибавляют по капле физиологического раствора; агглютинация при этом не только не разрушается, но становится отчетливее. При отрицательной реакции смесь остается равномерно мутной. Исследование нужно производить с двумя сериями стандартных сывороток, причем результаты исследований с той и с другой серией должны совпадать.

Учет результатов прямого опыта 1. При отсутствии агглютинации во всех сыворотках кровь относится к группе 0.

2. При отсутствии агглютинации в сыворотке группы А и при наличии ее в сыворотках групп 0 и В кровь относится к группе А.

3. При отсутствии агглютинации в сыворотке группы В и при наличии ее в сыворотках групп 0 и А кровь относится к группе В.

4. При наличии агглютинации во всех сыворотках — кровь относится к группе АВ.

Обратный (контрольный) опыт. На предметное стекло таким же способом наносят по 1 капле стандартных эритроцитов (группы А и группы В) и прибавляют по одной капле сыворотки или плазмы реципиента.

Учет результатов обратного опыта 1. При наличии агглютинации в обеих каплях кровь относится к группе 0 (αβ). 2. При наличии агглютинации с эритроцитами группы А — к группе В. 3. При наличии агглютинации с эритроцитами группы В — к группе А. 4. При отсутствии агглютинации с эритроцитами А и В — к группе АВ.

Как правило, данные, полученные при контрольном опыте, должны совпасть с данными основного опыта. Необходимо подчеркнуть, что во всех случаях обязательно надо проделывать и прямой, и обратный опыт, отнюдь не ограничиваясь одним прямым опытом. Если данные прямого и обратного опыта не совпадают или почему-либо результат опыта не ясен, то исследование необходимо повторить.

3) Возможные погрешности при определении: а) неправильное соотношение крови и сыворотки, т. е. слишком большое количество крови или недостаточное ее количество; б) несоответствующая температура помещения — оптимальная температура не выше 20—25°; при 50° агглютинация может не наступать; при низкой температуре (ниже 10°) описана



неспецифическая холодная агглютинация; в) недостаточная продолжительность наблюдения — указанный срок в 5 минут нужно выдержать по часам; г) слишком продолжительная экспозиция препарата — дольше 6 минут; д) работа в очень жарком, сухом помещении может вызвать подсыхание краев капель.

4) Подгруппы. В настоящее время выяснено, что, кроме основных четырех групп, имеются подвиды в пределах одной и той же группы так, группа А делится на подгруппы  $A_1$ ,  $A_2$  и  $A_3$ , группа АВ — на подгруппы  $A_1B$ ,  $A_2B$  и  $A_3B$ . Фактор А в подгруппе  $A_2$  слабее, чем в подгруппе  $A_1$ , в подгруппе  $A_3$  фактор А еще слабее. Соответственно этому эритроциты подгруппы  $A_1$  дают быструю и крупную агглютинацию, эритроциты подгруппы  $A_2$  — замедленную и нередко очень мелкую.

Это ослабление фактора А может иметь следствием неправильное определение группы: группа  $A_2B$  может быть ошибочно принята за группу В, группа  $A_2$  — за группу О. Чтобы избежать первой ошибки, желательно при обнаружении группы В дополнительно исследовать кровь с сывороткой В высокого титра (1:125). Вторая ошибка корригируется обратным опытом.

Для выделения подгрупп  $A_1$  и  $A_2$  можно также пользоваться специальной сывороткой: к сыворотке В высокого титра приливают 0,5% раствор пепсина (20 капель на 10 мл сыворотки). Пепсин содержит вещество, идентичное агглютиногену А; оно связывает часть агглютинина  $\alpha$ ; остающийся несвязанный агглютинин (так называемый  $\alpha_1$ ) будет агглютинировать только эритроциты  $A_1$  и не будет агглютинировать эритроциты  $A_2$ .

Техника определения: на тарелку, на которой определялась группа крови А и АВ, наносится внизу капля сыворотки с пепсином и к ней прибавляется меньшее количество испытуемых эритроцитов; если по истечении 3—5 минут появится агглютинация, то кровь принадлежит к подгруппе  $A_1$  или  $A_1B$ , при отсутствии агглютинации — к подгруппе  $A_2$  или  $A_2B$ <sup>1</sup>.

Такое детализированное определение групп проводится в специальных учреждениях, в повседневной же лабораторной практике оно не проводится.

В 1927 г. Ландштейнер установил в эритроцитах каждого человека, независимо от его групповой принадлежности, наличие трех разновидностей: М, N и Р. Рецепторы эти проявляют себя только в процессе иммунизации животных (кроликов); они могут встречаться раздельно или вместе, давая еще несколько подвидов к каждой группе. Таким образом, приходится говорить уже не о 4 или 6 группах крови, а о значительно большем числе их.

5) Источники ошибок. Ввиду возможности роковых последствий при неправильном определении групп, важно знать возможные источники ошибок, которые сводятся к следующим:

а) Псевдоагглютинация представляет собой усиленное образование монетных столбиков, которое может симулировать настоящую агглютинацию. Это явление чаще наблюдается при употреблении свежей неразведенной крови. Большей частью бывает достаточно развести сыворотку физиологическим раствором в 2 раза, чтобы монетные столбики исчезли.

б) Аутоагглютинация, т. е. агглютинация эритроцитов своей собственной сывороткой, наблюдается редко. Сыворотка в таких случаях агглютинирует, кроме того, эритроциты всех других групп. Такая аутоагглютинация при 0° наблюдается, как правило, во всех случаях. Аутоагглютинация при 0° наблюдается, как правило, во всех случаях. Аутоагглютинация при 0° наблюдается, как правило, во всех случаях.

<sup>1</sup> Блинов Н. И., Соловьев А. Т. Г., Атлас переливания крови, 1946.



агглютинация при обычной комнатной температуре наблюдается при различных патологических процессах. Она делает невозможным определение группы, и ее приходится устранить, что достигается **подогреванием** крови до 37° (на нагревательном столике или в термостате).

в) **Феномен Томсона** состоит в неспецифическом склеивании эритроцитов под влиянием сыворотки всех групп, в том числе группы АВ и одноименной группы. Феномен этот наблюдается при нестерильном сохранении крови под влиянием микроорганизмов. Чтобы его избежать, нужно работать стерильно. Так как сыворотка при этом не меняет своих агглютинационных свойств, то при двойном определении (по сыворотке и по эритроцитам) можно обнаружить в таких случаях неправильность определения.

б) **Перекрестная проба на совместимость.** Подбор донора при помощи описанной выше методики является наиболее распространенным. Однако метод этот таит в себе известные опасности: стандартные сыворотки могут портиться и терять свою силу, в редких случаях могут быть ошибки в их определении или обозначении. Поэтому давно уже возникла потребность не ограничиваться только определением группы, а контролировать эти данные непосредственным смешением крови донора и реципиента. Эту прямую перекрестную пробу необходимо, как правило, производить перед каждым переливанием крови. Кроме того, эта проба выручает в тех случаях, когда нет стандартных сывороток или же когда срочно нужно решить вопрос о пригодности донора и нет времени производить определение групповой принадлежности. Методика этой пробы очень проста: 2—3 капли сыворотки реципиента смешивают с эритроцитами предполагаемого донора; если получается агглютинация, то донор не подходит. Предварительное производство пробы на совместимость во всех случаях **обязательно**.

Если переливают консервированную кровь, то желательно предварительно проверить ее групповую принадлежность с помощью стандартных сывороток и лишь после этого определять ее совместимость с кровью реципиента.

7) **Клиническое значение определения групп.** Определение групп крови имеет громадное практическое значение при переливаниях крови. Тяжелые явления, наблюдавшиеся ранее при переливаниях, почти исчезли со времени введения метода, дающего возможность подбирать подходящих доноров. Основное правило: эритроциты донора не должны агглютинироваться сывороткой больного. Отсюда следует, что группа 0 (α<sub>3</sub>) представляет собой универсальных доноров: их эритроциты не агглютинируются сывороткой ни одной из групп; лицам же группы АВ можно вливать кровь всех четырех групп.

Все же, как упомянуто выше, четырьмя группами не исчерпываются разновидности крови.

### РЕЗУС-ФАКТОР

Резус-фактор представляет новый фактор в крови человека, открытый Ландштейнером и Винером в 1940 г. Этот фактор не зависит от принадлежности человека к группам 0, А, В, АВ и MN. Резус-фактор был обнаружен в результате изучения специфичности иммунных свойств сыворотки кролика, иммунизированного эритроцитами обезьяны *Macacus rhesus* (мартышки). Сыворотка такого кролика после соответствующей адсорбции приобретает свойство агглютинировать эритроциты человека. Это указывает на то, что эритроциты человека содержат агглютиноген, тождественный с агглютиногеном, содержащимся в эритроцитах обезьяны *Macacus*.



cus rhesus, откуда произошло и название этого фактора. Резус-фактор имеется в эритроцитах приблизительно у 85% населения; у остальных 15% он отсутствует. Люди, в эритроцитах которых он содержится, были названы резусположительными, не содержащие в эритроцитах этого фактора — резусотрицательными.

Резус-фактор имеет определенное значение при переливаниях крови. Если кровь резусположительного донора влить резусотрицательному реципиенту, то в организме последнего могут образоваться антитела — антирезус-агглютинины по отношению к резус-агглютиногену. При повторных переливаниях резусположительной крови этому реципиенту у него могут наблюдаться тяжелые реакции. Поэтому при повторных переливаниях желательно предварительно выяснить, совместима ли кровь донора и кровь реципиента (больного) по резус-фактору, и резусотрицательным реципиентам вливать только резусотрицательную кровь.

Тяжелые реакции, наблюдаемые при переливаниях крови, повидимому, чаще вызываются несовместимостью крови по резус-фактору, чем ошибками при определении групп крови в отношении системы O, A, B.

Резус-фактор передается по наследству. Он играет определенную роль в происхождении гемолитических анемий плода и новорожденного. Патогенез этого заболевания можно представить себе следующим образом: если мать принадлежит к резусотрицательной группе, а отец — к резусположительной, то плод будет резусположительным. Во время беременности резусположительные эритроциты плода могут вызывать в организме матери образование антирезус-агглютининов. Последние в дальнейшем переносятся через плаценту вновь в организм плода; они влияют на кровь плода, вызывая ее гемолиз; у плода при этом развивается гемолитическая анемия. Гемолитические анемии плода и новорожденного носят название эритробластоза. Известны три клинические формы эритробластоза: а) врожденная водянка, б) тяжелая семейная желтуха, в) врожденная анемия новорожденных. Первая форма дает 100% смертности, вторая — 50—70%, при третьей прогноз следует считать благоприятным.

Характерным клиническим симптомом для этих трех заболеваний является наличие признаков тяжелой анемии: низкий процент гемоглобина, малое число эритроцитов и большое число эритробластов. Другой общей чертой их является то, что они носят семейный характер: в семье имеется не один, а несколько случаев рождения детей с такого рода заболеванием.

Резус-фактор содержится только в эритроцитах, в противоположность факторам O, A, B, которые распределены в клетках и жидкостях тела.

Сложная структура резус-фактора находится в стадии изучения. Были описаны различные его разновидности.

Открытие резус-фактора имеет большое практическое значение: благодаря ему мы располагаем в ряде случаев методом предупреждения трансфузионных реакций.

При переливании крови необходимо руководствоваться следующими правилами. Реципиентам, у которых в прошлом отмечена повышенная реакция на переливание крови, необходимо перед повторным переливанием определять группу крови по резус-фактору: резусотрицательным реципиентам показано переливание крови только от резусотрицательных доноров, причем эритроциты донора и реципиента должны быть проверены на совместимость. То же относится и к женщинам, в анамнезе которых имеются привычные выкидыши, рождение мацерированных плодов и плодов с эритробластозом.



Практическое выполнение определения: для реакции необходимо иметь человеческие антирезус-сыворотки, которые получают от матерей, имевших детей с эритробластозом. Такие сыворотки в настоящее время изготавливаются Московским гематологическим институтом.

Проба ставится в маленьких пробирках; длина пробирки около 2 см, диаметр около 0,5 см. В пробирку вносят 1 каплю антирезус-сыворотки и 2 капли 2% эмульсии эритроцитов реципиента из цитратной, дефибрированной или свежей несвернувшейся крови. Сыворотку и эритроциты

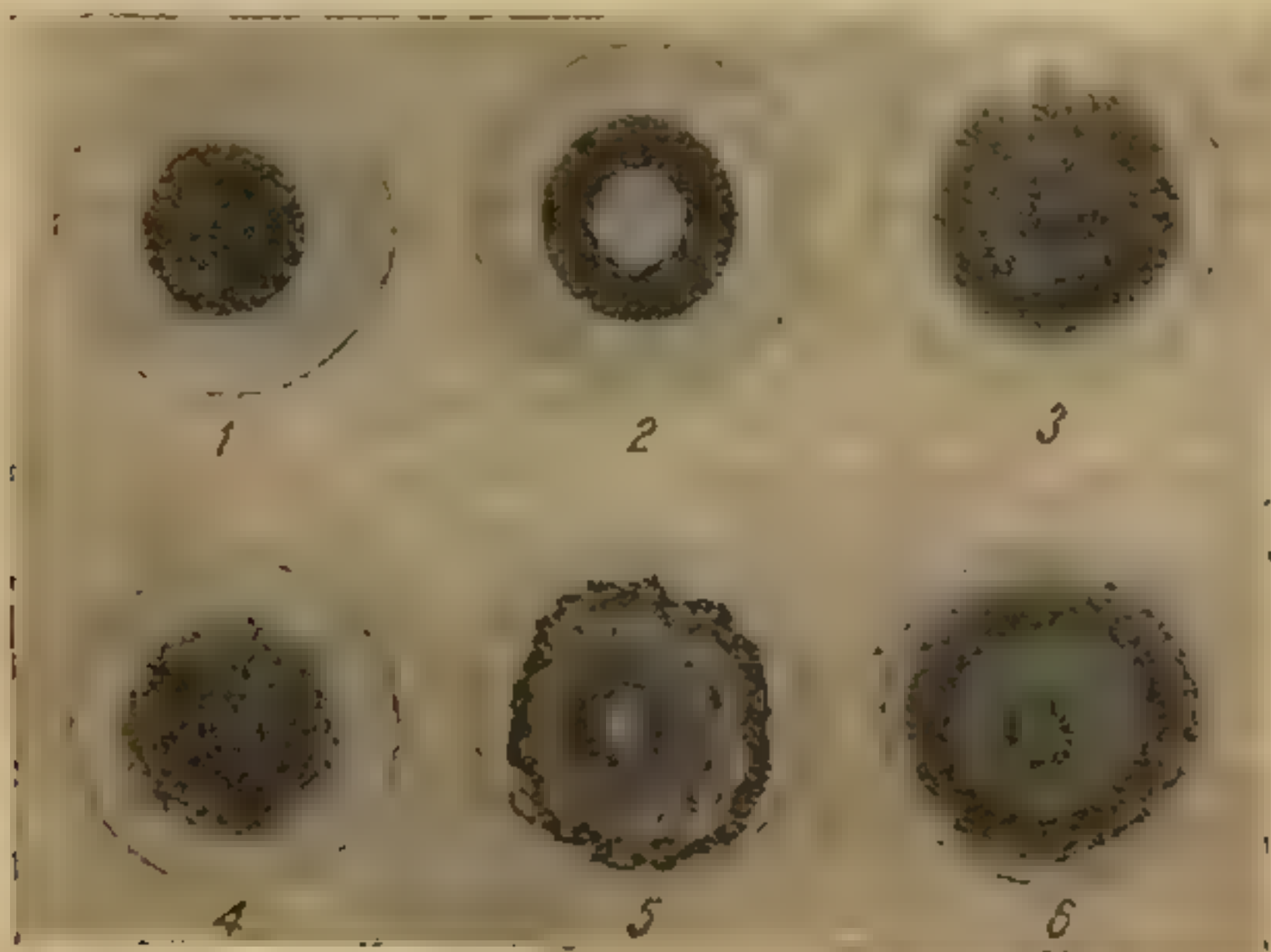


Рис. 52. Определение резус-фактора.

смешивают легким встряхиванием и пробирки оставляют на 1—1½ часа лучше (но не обязательно) при температуре термостата. Через 1—1½ часа их рассматривают сверху, держа в вертикальном положении. Можно рассматривать их на фоне белого листа бумаги или на фоне белого матового стекла, освещенного снизу электрической лампой. При отрицательной реакции на дне пробирки образуется небольшой компактный осадок правильной круглой формы с совершенно ровными краями (рис. 52, 1—2);

при слабо положительной реакции — осадок большего размера с расплывчатыми краями (3); при ясно положительной реакции — края осадка волнистые или зазубренные; в некоторых случаях весь осадок мелкозернистый (4, 5, 6).

Пробу желательно ставить с несколькими сыворотками и обязательно с контрольными резусположительными эритроцитами.

## ГЛАВА ПЯТАЯ

### ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУХОГО ОСТАТКА КРОВИ

Принцип. На фильтровальную бумажку, высушенную до постоянного веса, набирают небольшое количество крови и тотчас взвешивают; высушивают до постоянного веса. Разность между вторым и первым весом соответствует весу взятой крови; разность между вторым и третьим весом — количеству жидкости; между третьим и первым — весу сухого остатка.

Ход определения. В небольшой стаканчик для взвешивания (бюкс) помещают прямоугольный кусочек плотной фильтровальной бумаги и ставят открытым в сушильный шкаф при 100°, крышку кладут рядом. Спустя час стаканчик и крышку переносят в эксикатор. По охлаждении стаканчик закрывают и взвешивают на аналитических весах. Фильтровальную бумажку захватывают пинцетом и набирают каплю крови так, чтобы она целиком равномерно разместилась на бумажке, не доходя до ее краев. Помещают бумажку в бюкс, тотчас закрывают крышкой и взвешивают. Ставят в сушильный шкаф при 100°, сняв крышку. Спустя



час переносят в эксикатор вместе с крышкой; по охлаждении закрывают, взвешивают. Вновь сушат открытым в течение часа, охлаждают в эксикаторе, закрывают, взвешивают. Повторяют всю процедуру высушивания, охлаждения и взвешивания, пока три последовательных взвешивания не дадут одной и той же величины.

**Вычисление.** Разность между весом бумажки с только что взятой кровью и весом сухой чистой бумажки соответствует весу крови. Разность между весом бумажки с только что взятой кровью и бумажки с кровью, высушенной до постоянного веса, соответствует количеству жидкости во взятой крови. Из этих данных можно вычислить количество сухого остатка в процентах.

Содержание воды в процентах равно  $\frac{100 \times (a - b)}{a}$ .

Сухой остаток в процентах равен  $\frac{b \times 100}{a}$ , где  $a$  — вес крови до высушивания,  $b$  — вес крови после высушивания.

#### Пример

Вес бюкса с пустой бумажкой . . . . .	5,9235 г
» » и бумажки со свежей кровью . . . . .	6,1037 »
Отсюда вес свежей крови . . . . .	0,1802 г
Вес бюкса с бумажкой с сухой кровью . . . . .	5,9417 »
» » с пустой бумажкой . . . . .	5,9235 »
Отсюда сухой остаток . . . . .	0,0182 г
Содержание воды в 100 г крови = $\frac{(0,1802 - 0,0182) \times 100}{0,1802} = 89,90$ г.	

$$\text{Сухой остаток в 100 г крови} = \frac{0,0182 \times 100}{0,1802} = 10,10 \text{ г.}$$

При нормальных условиях количество сухого остатка в сыворотке составляет 8%, в крови — 20%. Можно пользоваться торсионными весами (стр. 142).

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ СКОРОСТИ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

Свертывание крови — чрезвычайно сложный физико-химический процесс, в котором принимает участие ряд факторов. Схема процесса свертывания в настоящее время в основном сводится к следующему: при кровотоке происходит активирование недействующего фермента, вызывающего свертывание, — протромбина (тромбогена). Недействующий протромбин при участии ионов кальция превращается в активный тромбин. Тромбин, действуя на растворенный в плазме белок — фибриноген, превращает его в нерастворимый фибрин.

Внутри сосудов кровь не свертывается, так как там нет готового тромбина, а активирование тромбогена тормозится специальным «парализатором» — антитромбином. При ранении из поврежденных тканей и кровяных пластинок освобождается тромбокиназа (вещество, соединяющееся с антитромбином), протромбин активируется и кровь свертывается. Чтобы предотвратить свертывание крови, к ней прибавляют различные вещества — антикоагулянты, нарушающие ту или другую фазу процесса свертывания крови.

Источники и синонимы веществ, участвующих в процессе свертывания: в плазме — 1) протромбин (тромбоген); 2) гепарин (антипротромбин, антитромбокиназа); 3) ионы кальция; 4) антитромбин; 5) фибриноген; в клетках и пластинках — тромбокиназа (кефалин, тромбопластин).



## СХЕМА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

### Предварительный процесс

<p>Вещества ускоряющие</p> <p style="text-align: center;">Тромбокиназа + Кальций</p>	<p style="text-align: center;">Протромбин ↓ Тромбин</p>	<p>Вещества тормозящие</p> <p>Гепарин Желчные соли Цитраты Флюориды Оксалаты</p>
--	---	--

### Реакция свертывания

<p>Тромбин</p>	<p style="text-align: center;">Фибриноген ↓ Фибрин</p>	<p>Антитромбин Тканевые глобулины Гирудин</p>
----------------	--	---

В клинической практике определяют как время свертывания крови, так и отдельные ингредиенты этого процесса.

Для определения скорости свертываемости крови описано много способов: для одних нужно относительно большое количество крови, так что необходим прокол вены; для других достаточно того количества крови, которое можно получить из укола в мякоть пальца. В СССР в настоящее время последние способы, вследствие их доступности и простоты, получили широкое распространение. Необходимо, чтобы были соблюдены два

условия: возможно малое количество манипуляций, производимых над кровью (отсутствие всякой травмы форменных элементов, внесения посторонних предметов и т. п.), и возможность регулирования температуры, так как скорость свертывания в высокой степени зависит от окружающей температуры; чаще всего исследования производятся при 25°.

Далее, в отношении исследований крови, взятой из укола пальца, необходимо помнить, что первая капля, полученная из укола, свертывается медленнее следующих (вследствие примеси тканевой жидкости), поэтому для получения сравниваемых между собой результатов следует всегда брать вторую каплю.

В дальнейшем будут описаны способы, наиболее широко применяемые в лабораториях Советского Союза. Прибор Ситковского был предложен впервые еще около 25 лет назад. Способ Фрейфельда описан сравнительно недавно; по своей простоте и удобству наблюдения он, несомненно, заслуживает внимания. Другие два описанные здесь способа удобны, но отличаются тем недостатком, что кровь в них сильнее травмируется; все же они дают сравнимые результаты.

Поскольку определение свертываемости в венозной крови имеет много преимуществ, приведен также один из способов, требующих прокола вены.

1) **По Ситковскому-Егорову.** Наиболее распространенным в СССР является определение скорости свертывания в аппарате Ситковского в видоизменении Егорова. На рис. 53 показано, как удобнее смонтировать его части. В широкий стеклянный цилиндр (слева) наливают воду, подогреваемую спиртовой лампочкой до 37° в течение всего исследования. Кровь насасывают из пальца в специальный капилляр до метки; капилляр.

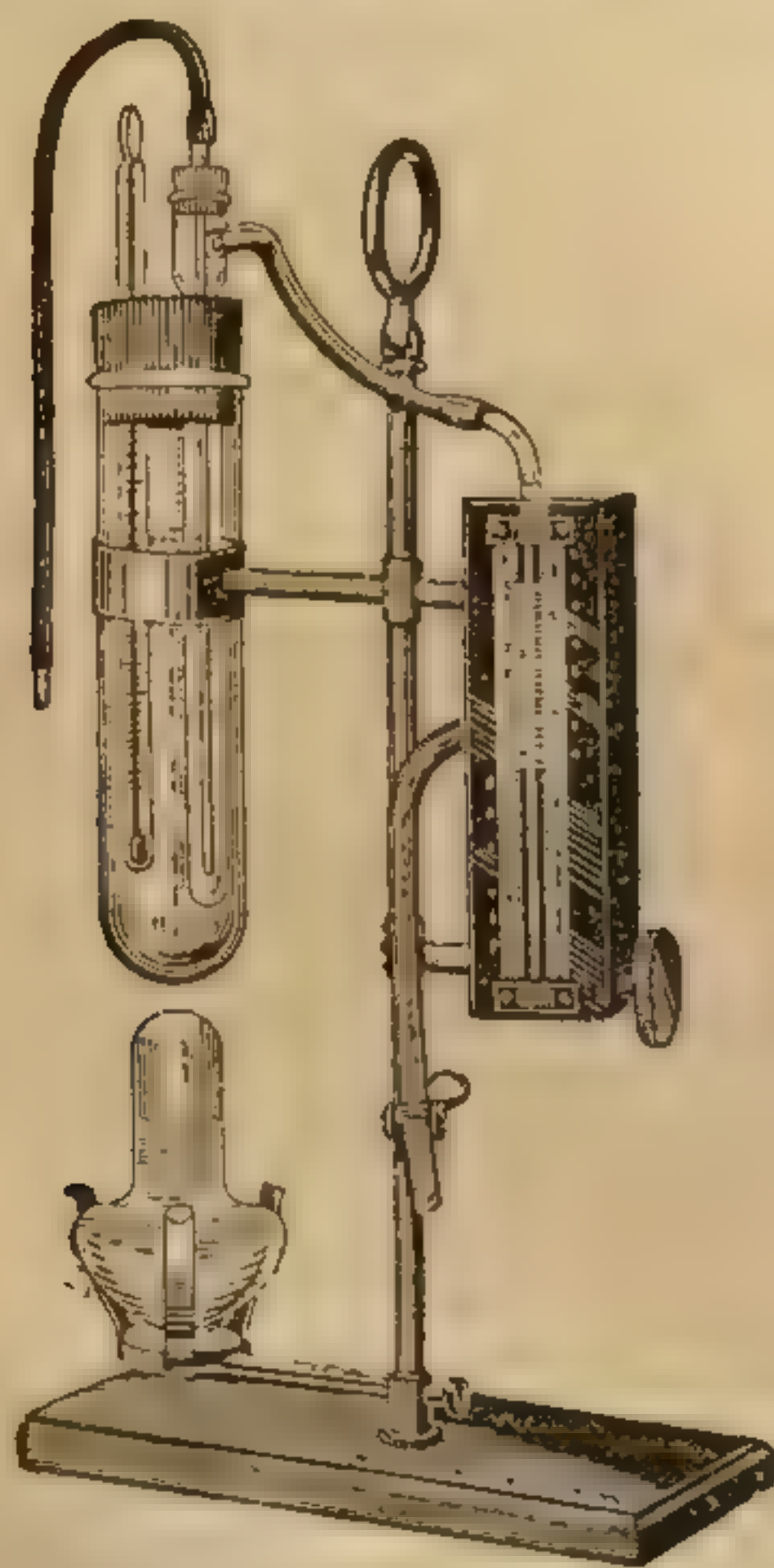


Рис. 53. Прибор для определения свертываемости крови по Ситковскому и Егорову.



вставленный в резиновую пробку, вводят в узкий цилиндр, который помещается в широком цилиндре с водой. Момент насасывания крови отмечают по секундомеру. Правая часть прибора представляет собой манометр, в котором ртуть перемещается вследствие сжатия или расслабления резинового баллона (на рисунке не виден); для этой цели служит винт, изображенный справа. Изменения в напряжении резинового баллона передаются по трубке, соединяющей левую часть прибора с правой, на внутренний (узкий) цилиндр и тем самым на капилляр, заставляя столбик крови двигаться вверх и вниз по капилляру на протяжении около 1 см. Момент появления первого сгустка крови на стенке капилляра соответствует началу свертывания (в норме 1 минута 35 секунд—2 минуты). Затем оставляют кровь в покое на 20 секунд, после чего осторожным вращением винта повышают давление, следя, чтобы сгусток оставался на месте. Как только он начинает двигаться вверх, прекращают давление и опять оставляют кровь в покое на 5 секунд. Затем снова повышают давление до тех пор, пока окажется, что кровь остается на месте, хотя манометр показывает давление в 60 мм ртутн. Это соответствует концу свертывания. В норме этот момент наступает в 2 минуты 50 секунд—4 минуты. Необходимые условия правильности результата: безукоризненная чистота капилляров (очистка раствором двуххромовокислого калия в крепкой серной кислоте, промывка дистиллированной водой, просушка проведением через пламя спиртовой горелки и просасыванием воздуха, а не спиртом и эфиром).

2) По Фрейфельд. Для взятия крови из пальца служат маленькие стеклянные капилляры длиной около 1 см, вставленные в металлическую ручку (какие имеются при гемометре Флейшля; они могут быть приобретены в настоящее время через контору Союзмедоборудования). Далее, необходимо иметь большую чашку Петри, в которую наливают теплую воду такой температуры, чтобы термометр, положенный на крышку, показывал 25°, и вторую чашку с водой, стоящую на белом фоне. Из обычного укола в палец, достаточно глубокого, чтобы самостоятельно выступила большая капля крови, берут кровь, прикладывая отверстие капилляра к верхушке купола. Пользуются второй каплей, стерев первую. Заполняют один за другим 10 капилляров и по мере заполнения тотчас кладут их на подогретую крышку чашки Петри. Момент начала исследования точно отмечают на секундомере. По истечении 1 минуты первый капилляр погружают в чашку с водой и наблюдают за состоянием вытекающей крови; то же делают с остальными капиллярами, каждый раз с промежутком в 1 минуту. Начало свертывания выражается в появлении в вымываемой из капилляра крови фибринозного сгустка. Когда свертывание закончено, кровь вовсе перестает выливаться из капилляра. Отмечают начало и конец свертывания; в норме они соответствуют 4—5 и 5—7 минутам.

Если в лаборатории холодно, то температура на крышке чашки Петри заметно понижается до конца исследования. Поэтому лучше с самого начала прикрывать капилляры какой-нибудь крышкой.

По окончании исследования капилляры очищают волоском, промывают и высушивают ватой. Все капилляры должны иметь одинаковый просвет. Укрепить их в металлической ручке можно при помощи капли подогретого канадского бальзама.

3) По Бюркеру. Для определения свертываемости крови, полученной из укола в палец, Бюркером был предложен простой и достаточно хорошо ориентирующий способ. Принцип определения следующий: в углубление предметного стекла помещают 1 каплю дистиллированной и проки-



пяченной (для удаления углекислоты) воды и в нее опускают каплю крови из хорошо вымытой мякоти пальца. Момент взятия крови точно отмечают на часах.

Спустя полминуты стеклянную палочку, очень тонко вытянутую, с маленьким шариком на конце, вводят с одного края в каплю, проводят до центра, описывают ряд (около 5) спиралеобразных движений от центра к периферии и вынимают палочку у противоположного края капли, стараясь как бы захватить часть крови. Палочку сейчас же моют и обсушивают и повторяют всю процедуру спустя еще полминуты и т. д., пока при вынимании палочки из крови не покажется первая ниточка фибрина. Этот момент и отмечают как начало свертывания.

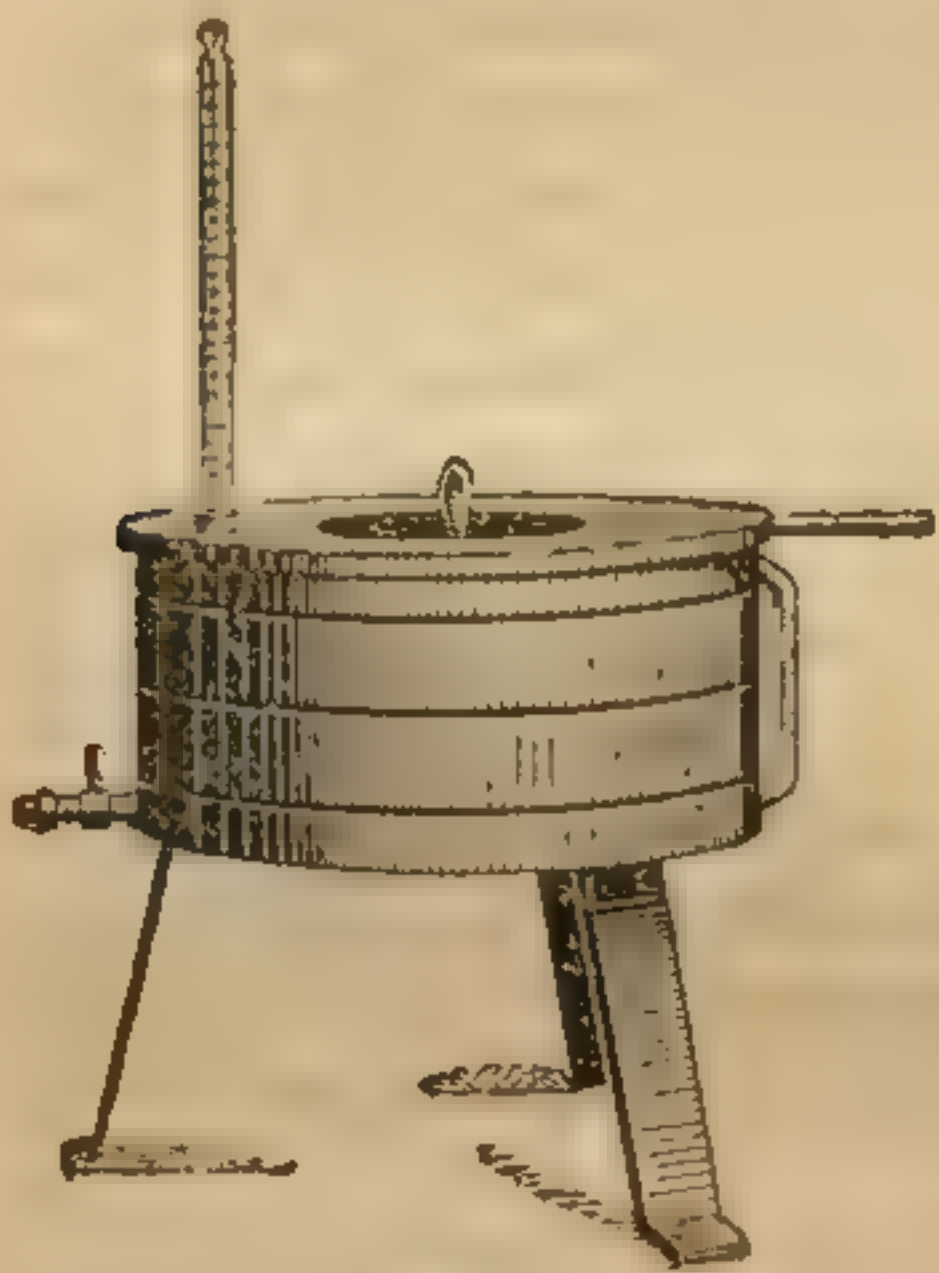


Рис. 54. Прибор для определения свертываемости крови по Бюркеру.

Самое исследование производится в приборе (рис. 54), насколько возможно исключающем различные источники ошибок; его очень легко устроить в каждой лаборатории. Прибор представляет собой маленькую водяную баню на ножках, обшитую войлоком для лучшего сохранения температуры; к нему приложена маленькая горелка для подогревания воды во время исследования. Баню наполняют водой температуры 25°. В крышке аппарата имеется отверстие для термометра; снизу к крышке приделаны металлические лопасти, при вращении крышки перемешивающие воду, обеспечивая, таким образом, равномерную температуру. В центре крышки имеется квадратное углубление, снизу выложенное металлом. Сюда вкладывают стекло с круглым углублением посредине, куда помещают исследуемую кровь в каплю воды, как было описано выше, и покрывают специальной деревянной крышечкой. Вследствие того что стекло лежит на хорошем проводнике тепла (металл), соприкасающемся с водой, и окружено плохими проводниками тепла, исследование происходит при одинаковой температуре. Каждые полминуты крышку бани поворачивают на 90°, чтобы не входить стеклянной палочкой каждый раз с одной и той же точки на краю капли; приподнимают крышечку, лежащую на стекле, и проводят стеклянным капилляром по смеси крови и воды, как было указано выше. Соотношение величины капель воды и крови не отражается на скорости свертывания; в то же время прибавление воды необходимо во избежание высыхания капли. Но реакция воды может иметь значение, поэтому ее освобождают от углекислоты, как было указано выше. Кровь здорового человека при исследовании по этому способу свертывается в 5—5½ минут.

4) По Мас и Магро. На часовое стеклышко, покрытое тонким слоем парафина, наливают большую каплю вазелинового масла. Производят укол в тщательно очищенную мякоть пальца, стирают первую выступившую каплю, осторожно выдавливают новую каплю и насасывают ее в капиллярную трубку вместимостью в 20 мм³ (пипетку, приложенную к гемометру Сали), предварительно смоченную изнутри парафиновым маслом (масло набирают в пипетку и опять выдувают его). Каплю крови, набранную в пипетку, немедленно выдувают в каплю масла на часовом стекле; этот момент отмечают на часах как начало исследования. Каждые две минуты кровь вновь насасывают в пипетку, обтирая кончик пипетки фильтровальной бумагой. Пока кровь не свернулась, она поднимается в пипетку; когда же свертывание наступило, насосать ее стано-



вится невозможным. Если исследование производится при температуре в  $15^{\circ}$ , то нормальная человеческая кровь свертывается через 8—12 минут, в среднем через 10 минут. Для клинических целей результат достаточно точен, если температура, при которой производят исследование, колеблется в пределах от  $15^{\circ}$  до  $25^{\circ}$ .

5) По Шульцу. Для определения времени свертывания венозной крови берут специальную капиллярную пипетку с рядом шарообразных расширений (бусинок) одинаковой емкости; кровь из вены набирают в эту пипетку и через определенные промежутки времени (1, 2, 3 минуты и т. д.) отламывают отдельные части (бусинки) этой пипетки, опускают их в пробирку с физиологическим раствором и сильно встряхивают. В первых пробирках вся жидкость равномерно окрашивается кровью. Появление в жидкости первого макроскопически видимого сгустка указывает на начало свертывания, а прекращение вымывания крови и сгустков из шарика указывает на конец его. Тот же способ можно применить к взятию крови из пальца, заменив описанную пипетку прямой капиллярной пипеткой.

При взятии нормальной крови из пальца свертывание наступает после отламывания 6-го или 7-го отрезка, т. е. через 6—7 минут; при взятии крови из вены — через 12—14 минут. При гемофилии кровь иногда не свертывается часами; в таком случае для определения времени свертывания надо отламывать бусинки через более продолжительные промежутки — через 10—15 минут.

Неудобство описанного метода заключается в том, что не всегда удается легко отламывать бусинки, держа пипетку пинцетом; отламывать же руками не следует, так как при этом происходит нагревание пипетки, что, несомненно, влияет на скорость свертывания крови.

6) По Фонию. Берут влажную камеру, сделанную из чашки Петри, в которую положена влажная марля. На марлю кладут часовое стеклышко с 10 каплями испытуемой крови, взятой из вены. Эту камеру держат при комнатной температуре, лучше же в термостате для большего постоянства условий опыта. Начало свертывания определяется по появлению первых нитей фибрина, которые выявляются при проведении концом западной пастеровской пипетки по поверхности крови; концом свертывания считается образование сгустка, выдерживающего поднятие его вместе со стеклышком при постановке стеклышка под прямым углом. Нормально начало свертывания крови по Фонию отмечается через 5—8 минут, конец — через 15—18 минут.

При исследовании свертывания крови необходимо указывать способ определения, так как каждый способ дает другие результаты в зависимости от неодинаковых условий — температуры и других, при которых находится кровь.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАСТЯЖИМОСТИ И СОПРОТИВЛЯЕМОСТИ СГУСТКА

Считается недостаточным одно определение времени свертывания и необходимо характеризовать качество получающегося сгустка: растяжимость его, сопротивляемость по отношению к разрыву и ретрактильность.

Растяжимость и сопротивляемость определяются с помощью так называемого тромбометра. Определение производится следующим образом. Из вены локтевого сгиба шприцем берут 6 см<sup>3</sup> крови и тотчас смешивают в центрифужной пробирке с 2 см<sup>3</sup> 0,75% раствора сернокис-



слоем магнезии чтобы несколько замедлить процесс свертывания. Затем смесь центрифугируют в течение 7 минут в электрической центрифуге, делающей приблизительно 2000 оборотов в минуту, вследствие чего смесь разделяется на два слоя: верхний желтовато-серый, мутный, состоящий из плазмы и кровяных пластинок, и нижний темнокрасный, заключающий в себе красные и белые шарики. Вскоре после окончания центрифугирования обыкновенно происходит свертывание, причем верхний слой *in toto* превращается в компактный белый тромб, а из нижнего получается очень рыхлый красный сгусток. Тогда содержимое пробирки вытряхивают в чашку, наполненную физиологическим раствором поваренной соли, где белый тромб отделяется от красного свертка и промывается. Затем с помощью роговой ложечки (неметаллическим инструментом) белый тромб переносят в специальный пресс, где он медленно сжимается до полного отделения сыворотки, превращаясь в плотную пластинку. Последняя после пятиминутного уплотнения в чистом эфире зажимается в специальный аппарат (тромбомер), состоящий из двух зажимов: верхнего, укрепленного неподвижно в штативе, и нижнего, свободно скользящего сверху вниз. К подвижному зажиму привешен цилиндр, тяжесть которого можно увеличивать, насыпая в него мелкой дроби. Обработанная эфиром пластинка фибрина осторожно зажимается одним концом в верхний, другим — в нижний зажим; после этого в цилиндр начинают сыпать дробь, вследствие чего пластинка постепенно растягивается. Помещенная сбоку шкала с делениями на миллиметры дает возможность легко следить за величиной растяжения. На этой шкале в течение всей манипуляции должно быть непрерывно сосредоточено внимание, чтобы определить величину растяжения перед самым моментом разрыва пластинки. Выраженная в миллиметрах величина растяжения перед моментом разрыва и характеризует растяжимость сгустка данной крови. Вес же (в граммах) того количества дроби, которое потребовалось для разрыва пластинки, определяет ее сопротивляемость.

В норме, по Фонио, растяжимость фибрина колеблется от 16 до 23 мм, а сопротивляемость — от 120 до 350 г.

В настоящее время в СССР изготавливается прибор Гуревича, который может быть использован для этой цели.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ «ВАЛЕНТНОСТИ» КРОВИ

Для определения так называемой «валентности» крови разработан способ, посредством которого устанавливается сила свертываемости крови и ее способность преодолевать определенное измеренное препятствие к свертыванию. Сущность метода заключается в том, что одинаковые количества испытуемой крови смешивают с раствором сернокислой магнезии различной концентрации и по истечении некоторого времени смотрят, в какой концентрации раствора наступило свертывание. Для производства этого метода предлагается прибор, состоящий из ряда пробирок и такого же количества пузырьков для различных растворов сернокислой магнезии, — пузырька-смесителя для крови, в который она набирается в количестве  $3,6 \text{ см}^3$  с  $0,75\%$  сернокислой магнезией в количестве  $0,4 \text{ см}^3$ , и нескольких  $1 \text{ см}^3$  градуированных пипеток. Само определение производится следующим образом.

В каждую пробирку наливают  $0,2 \text{ см}^3$  крови из пузырька-смесителя,  $0,5 \text{ см}^3$  раствора сернокислой магнезии концентрации от 0 до  $12\%$ . Всего берут 18 пробирок. Затем содержимое тщательно смешивают и оставляют пробирки стоять в течение 2 часов при комнатной темпера-



туре. После этого путем наклона каждой пробирки определяют, где наступило полное свертывание. Последнюю пробирку, в которой наступило полное свертывание, т. е. имеется большой прилипающий к стенкам сгусток, считают максимальной валентностью. Начиная же со следующей пробирки, одновременно с повышением концентрации раствора, сгусток делается все меньше, и, наконец, та пробирка, в которой отмечается самый маленький сгусток, считается минимальной валентностью этой крови. Фонию обозначает максимальную и минимальную валентность как V и VII.

Изложенное исследование имеет практическое значение при заболеваниях, протекающих с нарушением свертывания крови.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕТРАКЦИИ (СОКРАЩЕНИЯ) КРОВЯНОГО СГУСТКА

Кровь в процессе свертывания образует сгусток, который в дальнейшем сокращается, выделяя сыворотку.

Кровь берут из вены в количестве 2—3 см<sup>3</sup>, помещают в пробирку определенного, всегда одного и того же диаметра и ставят в термостат при 37° на 1—2 суток, наблюдая каждые несколько часов за ходом сокращения сгустка. Первым признаком начинающегося сокращения служит отделение сгустка от стенок пробирки; в дальнейшем он выделяет все большее количество сыворотки. В нормальной крови процесс сокращения сгустка заканчивается в течение 18—24 часов.

Сокращение сгустка, повидимому, имеет связь с количеством тромбоцитов. Если количество их нормально, сокращение сгустка совершается в указанный срок; если оно значительно понижено, сгусток сокращается с опозданием или совершенно не сокращается. При тромбопенической пурпуре обычно наблюдается замедление или отсутствие сокращения сгустка, при гемофилии — нормальное сокращение сгустка.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТРОМБИНА (ПРИНЦИП КВИКА)

Протромбин представляет собой глюкопротеид в глобулиновой фракции белков плазмы. Протромбин синтезируется в нормальной печени, если имеется налицо достаточное количество витамина K.

Реактивы: 1) физиологический раствор свежеприготовленный, простерилизованный; 2) хлористый кальций (CaCl<sub>2</sub>), химически чистый, безводный (высушенный в эксикаторе): 1,11 г, растворяют в 400 см<sup>3</sup> дистиллированной воды (0,2775 г на 100 см<sup>3</sup> воды); 3) приблизительно n<sub>110</sub> раствор нейтрального щавелевокислого натрия (хранить в эксикаторе): 1,34 г щавелевокислого натрия растворяют в 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды; 4) тромбопластин.

а) Приготовление сухого вещества. Часть полушария человеческого или кроличьего мозга, взятого не позже чем через 48 часов после смерти, освобождают от мягкой мозговой оболочки и сосудов. Срезают скальпелем серое вещество мозга, промывают его небольшим количеством водопроводной воды, сливают воду нацело, растирают в ступке до получения однородной массы. Полученную массу намазывают тонким слоем на стекло и высушивают 24—72 часа в термостате при 37°, пока порошок легко соскабливается. Высушенную массу соскабливают ножом и полученный порошок ссыпают в чистую сухую колбочку, которую закрывают корковой пробкой. Хранят при комнатной температуре. Препарат стоек (2—3 месяца).

б) Приготовление эмульсии. В короткую круглодонную пробирку емкостью около 10 см<sup>3</sup> наливают 4 см<sup>3</sup> физиологического раствора



(1), всыпают 0,2 г сухого тромбопластина и нагревают 12 минут на водяной бане при  $55^{\circ}$ , тщательно размешивая все время стеклянной палочкой. По истечении этого времени пробирку вынимают из водяной бани и оставляют при комнатной температуре на 2—3—4 часа, чтобы дать осесть крупным частицам (или центрифугируют 1—1½ минуты при малом числе оборотов). Отстоявшийся молочномутный слой чистой сухой пипеткой переносят в чистую сухую пробирку и употребляют для реакции.

**Взятие крови.** В пробирку, в которую налито 0,5 см³ раствора оксалата натрия (3), приливают 4,5 см³ крови, взятой из вены, осторожно смешивают опрокидыванием и центрифугируют. Плазму отсасывают.

**Ход определения.** В короткую круглодонную пробирку наливают 0,1 см³ плазмы, 0,1 см³ эмульсии тромбопластина и 0,1 см³ раствора кальция, быстро и тщательно смешивают (все ингредиенты отмеривают микропипеткой и приливают в указанном порядке). В момент приливания хлористого кальция пускают в ход секундомер; наблюдение ведут в проходящем свете, все время слегка поворачивая пробирку. В момент появления свертка секундомер останавливают и отмечают его показания.

**Контроль.** Параллельно с опытом ставят реакцию с 1—2 плазмами здоровых людей, чтобы выяснить активность тромбопластина. Содержание протромбина в плазме здоровых принимается за 100%. Содержание протромбина в исследуемой плазме выражается в процентах. Одновременно проводят контроль и опыт в 5—8 параллельных определениях и берут средние данные. В норме появление сгустка отмечается через 18—25 секунд.

**Расчет.** Допустим, что в здоровой плазме сверток появился через 30 секунд, в исследуемой — через 40 секунд; тогда содержание протромбина в исследуемой плазме равно  $\frac{30 \cdot 100}{40}$ , т. е. 75%.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТРОМБИНА ПО МОДИФИКАЦИИ ПРОФ. КУДРЯШЕВА

Для определения концентрации протромбина в крови используется также предложенная Кудряшевым модификация метода Квика. Эта модификация отличается высокой точностью результатов в связи с применением в реакции стандартизированных препаратов тромбопластина.

Для анализа необходимо иметь следующие реактивы: 1) 0,1 мол. раствор щавелевокислого натрия; 2) 0,025 мол. раствор хлористого кальция; 3) физиологический раствор (0,85% NaCl).

Для выполнения анализа требуется следующее оборудование: шприц с делениями, пробирки от гемометра, микропипетки на 0,1 см³, химический термометр, водяная баня.

Перед производством анализов готовят стандартный раствор тромбопластина. Тромбопластин получают из мозга крысы. Головной мозг тщательно очищают от кровеносных сосудов, промывают в физиологическом растворе и просушивают в течение нескольких секунд фильтровальной бумагой. Мозг взвешивают и тщательно растирают в фарфоровой ступке. В растертый мозг добавляют физиологический раствор из расчета 10 см³ на 1 г мозга. После этого смесь переносят в пробирку и нагревают в водяной бане при  $58^{\circ}$  в течение 15 минут. После нагревания жидкость отделяют от осадка центрифугированием и подвергают



проверке на активность на крови крысы. Для этой цели из яремной вены крысы шприцем, в котором заготовлено 0,1 см<sup>3</sup> оксалатного раствора, набирают 0,9 см<sup>3</sup> крови. Кровь быстро и тщательно перемешивают с оксалатом при помощи встряхивания шприца, после чего выливают в пробирку и центрифугируют с целью отделения плазмы от форменных элементов. В пробирке от гемометра или видалевской смешивается 0,1 см<sup>3</sup> тромбопластина, 0,1 см<sup>3</sup> хлористого кальция и 0,1 см<sup>3</sup> плазмы крысы. Перед включением в смесь плазмы пробирку помещают в водяную баню при температуре 37°. Отсчет времени в секундах производится с момента добавления в смесь плазмы и до образования сгустка. Эта реакция с целью контроля повторяется 2 или 3 раза. Тромбопластин считается пригодным, если оксалатная плазма крысы в указанных выше условиях образует сгусток в течение 13—14 секунд. Для большей точности рекомендуется повторить ту же реакцию с разбавленной крысиной плазмой. Для этой цели на 1 часть оксалатной плазмы берут 2 части физиологического раствора. Разбавленная в 3 раза крысиная плазма образует сгусток в 17—18 секунд, если тромбопластин имеет стандартную активность. Тромбопластин, обеспечивающий в присутствии хлористого кальция при 37° образование сгустка в более длительное или более короткое время, считается непригодным.

Для определения концентрации протромбина в крови человека обычным путем из вены берут кровь непосредственно в раствор оксалата. Соотношение объемов взятой крови и оксалата должно быть точно 9:1. После отделения плазмы от форменных элементов производится определение протромбина. Для этой цели воспроизводится та реакция, которая была описана выше для стандартизации тромбопластина, но с заменой крысиной плазмы на оксалатную плазму человека.

По времени, потребному для образования сгустка, определяется содержание протромбина в процентах. При 100% протромбина время свертывания плазмы человека равно 28—32 секундам, при 50% — 43, при 33% — 57, при 25% — 71, при 12% — 150, при 10% — 240 секундам.

Снижение концентрации протромбина ниже 30% угрожает спонтанной кровоточивостью.

Необходимость приготовления тромбопластина, представляющего кропотливый и трудоемкий процесс, препятствует широкому применению определения протромбинового времени в лабораторной практике.

Модификация Д. П. Боровской и С. Д. Ровинской устраняет эту необходимость, позволяя пользоваться готовым препаратом<sup>1</sup>.

В качестве такового Д. П. Боровская и С. Д. Ровинская предлагают применять антирабическую вакцину, которая, как известно, представляет эмульсию кроличьего мозга.

Авторы пользовались вакциной по Ферми (карболизованной). Вакцина отпускается пастеровскими станциями в ампулах с надписью срока годности ее.

Для реакции желательно разводить продажную вакцину в 8—10—12 раз, в зависимости от ее густоты, устанавливая для каждой ампулы такое разведение, которое при нормальном содержании протромбина у человека дает время образования сгусточка в 25—30 секунд. При таком сравнительно медленном процессе свертывания процент ошибки меньше, чем при более густых взвешях, при которых процесс заканчивается в 10—16 секунд. В летнее время содержимое ампулы, хранившееся при комнатной температуре, приходится разводить в 20—30 раз.

<sup>1</sup> Клиническая медицина, № 4, стр. 88, 1948.



Параллельные опыты, произведенные авторами с оригинальным препаратом по Квику, показали полную пригодность антирабической вакцины для данной цели.

Возможность пользоваться готовым препаратом тромбопластина сильно упрощает методику и делает пробу доступной в ходовой практике лаборатории.

Диагностическое значение. Уменьшение протромбина обычно ведет к проявлению геморрагических синдромов; особенно часто это наблюдается у новорожденных и обусловлено дефицитом витамина К, который у взрослых образуется микробами в кишечнике. Приемы витамина К увеличивают количество протромбина. Необходимо повторять анализ для установления эффекта лечения. При заболевании печени протромбин уменьшается.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ФИБРИН-ФЕРМЕНТА

По этому методу для определения тромбина (фибрин-фермента) берут ряд пробирок, в которые наливают одинаковые количества раствора фибриногена (сернокисломagneзиальная плазма крови здорового). Далее, в эти пробирки прибавляют убывающие количества испытуемого тромбина (сыворотки). После стояния в течение 24 часов на леднике пробирки вынимают и путем осторожного наклона отмечают в них, где произошло свертывание и где не произошло. Результат отмечают крестами, т. е. где произошло полное свертывание — ставят четыре креста, почти полное — три креста, частичное свертывание — два креста и еле заметный сгусток — следы или один крест; отсутствие же какого-либо сгустка считается отрицательным результатом. Помимо этого, можно производить количественное вычисление тромбина, которое проводится следующим образом. При производстве опыта делаются такие разведения: в первую пробирку берут 1 см<sup>3</sup> неразведенного тромбина; в следующую берут 0,5 см<sup>3</sup> 1% раствора хлористого натрия и 0,5 см<sup>3</sup> предыдущего раствора. Таким образом, готовят 11 пробирок со следующими растворами: в первой пробирке — неразведенная сыворотка, во второй — 0,5 ее, в третьей — 0,25, в четвертой — 0,125, в пятой — 0,00562 и т. д., в десятой (последней) — 0,002 сыворотки; в одиннадцатой пробирке тромбина не добавляют, это — контрольная пробирка. Фибриногена, разведенного в 10 раз, прибавляется во все пробирки по 2 см<sup>3</sup>.

Переходя к разведению, мы должны отметить, что за единицу количества фермента принимается содержание его в последней пробирке, где произошло свертывание. Для того чтобы узнать, сколько таких единиц содержится в 1 см<sup>3</sup> целой сыворотки, нужно, следовательно, разделить единицу на цифру, указывающую количество сыворотки в 1 см<sup>3</sup> разведения, способного еще к свертыванию. Пример: предел свертывания — в девятой пробирке, в которой разведение тромбина 0,004. Вычисление производится следующим образом:  $\frac{1,0}{0,004} = 250$  единиц. Количество фибрин-фермента, содержащегося в 1 см<sup>3</sup> сыворотки, обозначается Ff = 62,5. Для нормальной человеческой сыворотки цифры колеблются между 62,5 и 250 единицами.

Нужно следить за тем, чтобы пробирки и пипетки были очень чистые, желательно простерилизованные. Раствор фибриногена готовят заранее смешиванием 3 частей свежей крови с 1 частью 28% сернокислой магнезии и отцентрифугированием; он должен сохраняться на



леднике; если имеется небольшая муть перед производством опыта, жидкость должна быть профильтрована. Контрольная пробирка должна ставиться постоянно, и если в ней имеется хотя бы малейший сгусток, опыт считается неправильным.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИБРИНОГЕНА

Определение фибриногена производится совершенно так же, только раствор фибрин-фермента (свежая сыворотка, разведенная в 5 раз) всюду прибавляется по 1 см<sup>3</sup>. Раствор же фибриногена (испытуемая свежая магниальная плазма) берется в различных разведениях. Вычисления производятся так же, как для фибрин-фермента. Нормальные количества фибриногена в крови у человека колеблются от 62,5 до 250.

Метод прост, но дает очень большие колебания цифр. Гораздо лучше рефрактометрический метод, производящийся на обычных началах при работе с рефрактометром для погружения.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ КРОВОТЕЧЕНИЯ

Из ранки определенной величины и глубины кровотечение продолжается определенное время. Ранку наносят иглой Франка, выдвинутой на 4 мм; отмечают время; после этого, ничуть не сдвигая пальца или уха, фильтровальной бумажкой каждые 20—30 секунд снимают самостоятельно выступающую каплю. При нормальных условиях появление новых капель заканчивается через 2—4 минуты: приложенная к ранке бумажка больше не окрашивается. Кровотечение продолжается дольше нормального, если количество тромбоцитов значительно уменьшено (рис. 55). При гемофилии оно обычно не изменено.



Рис. 55. Определение продолжительности кровотечения в случае тромбопении с резко уменьшенным количеством тромбоцитов. Черта во втором ряду соответствует 10 минутам. Исследование прервано через 15 минут.

Определение связано с многочисленными источниками ошибок: вследствие толщины кожи, силы удара, температуры кожи и т. п.

### МЕТОДИКА СПОСОБОВ ВЫЗЫВАНИЯ СОСУДИСТЫХ ФЕНОМЕНОВ

Наиболее общеупотребительным является феномен жгута (Стефана-Кончаловского, Румпель-Леде), для получения которого существует несколько способов. Обычный способ состоит в следующем: руку выше локтя, сдвигают жгутом и в течение 5—10 минут наблюдают, не появились ли точечные или более обширные петехии. Получение их через 3—5 минут считается патологическим.



Некоторые авторы видоизменили этот метод тем, что перетяжкой вызывается не только венозная гиперемия, но и артериальная. Для этого помещают перетянутую руку в теплую воздушную ванну на 10 минут и считают доказательным появление при этом только резких густых петехий.

В последнее время получение симптома для определения кровяного давления производится с помощью наложения манжетки от аппарата жгута со сдавлением, равным минимальному давлению у испытуемого больного. В таком состоянии рука больного держится 10 минут, и отмечается, на какой минуте и сколько появилось петехий. У здоровых мужчин петехии появляются через 10 минут, у женщин — через 8 минут, а во время менструации — через 5 минут.

Менее доказательными считаются следующие три феномена: молоточковый, уколочный и инъекционная проба. Однако в ряду остальных симптомов положительный результат и этих феноменов является важным.

Молоточковый симптом очень прост. Он считается положительным, если при постукивании по коже больного перкуссионным молотком получают синяки.

Уколочный феномен также очень несложен. На поверхности кожи величиной в 4 см<sup>2</sup> делают 5 уколов иглой (причем эти уколы располагаются рисунком, как на карточной пятерке). На другой день смотрят, не появились ли около этих уколов геморрагии, причем появление их считается патологическим.

Инъекционная проба производится так: под кожу впрыскивают 1—2 см<sup>3</sup> физиологического раствора поваренной соли, причем у больных с ненормальной порозностью сосудов через некоторое время на месте инъекции появляются синяки.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЯЗКОСТИ КРОВИ

Определение вязкости основано на том, что скорость продвижения жидкостей в одинаковых капиллярах при одинаковых температуре и давлении зависит только от внутреннего трения жидкости. В отношении крови это определение сводится к сравнению скорости продвижения крови и воды при одинаковых условиях.

Для исследования вязкости крови широкое распространение получил аппарат, в котором продвижение воды и крови в капиллярах вызывается отрицательным давлением, обусловленным расслаблением резинового баллона.

Определение производится при средней комнатной температуре (17—23°). Руку предварительно опускают в теплую воду температурой около 40° и сильно растирают. Кровь должна вытекать из укола без всякого давления на палец. Капилляры должны быть безукоризненно чисты; по окончании исследования кровь тотчас выдувают из капилляров и промывают их концентрированным (25%) аммиаком.

В капилляр набирают воду, закрывают поворотом крана сообщение между баллоном и частью прибора, по которой движется кровь, натягивают воду до метки. Быстро набирают в приложенный к прибору капилляр кровь, приставляя его к капле крови, полученной из укола пальца; достаточно иметь небольшой столбик крови. Наклоняя капилляр, заставляют кровь продвинуться до воронкообразно расширенного конца и приставляют этот конец к соответствующему капилляру прибора. Ставят кран в такое положение, чтобы баллон сообщался с обоими коленами прибора, сжимают баллон, закрывают пальцем отверстие на стеклянной трубке, соединяющей



его с резиновой трубкой, и медленно расслабляют баллон. Вода и кровь при этом продвигаются по капиллярам с неодинаковой скоростью. Прекращают продвижение жидкостей, когда кровь дойдет до метки 1, и отмечают, до какой метки дошел столбик воды.

Другой аппарат имеет то преимущество, что исследования производятся всегда при одной и той же температуре — при  $20^{\circ}$ , тогда как средняя комнатная температура все же колеблется в пределах  $6-7^{\circ}$ , что отражается на результатах. Далее, продвижение жидкостей в трубочках происходит не вследствие отрицательного давления, а в силу тяжести жидкостей при вертикальном положении аппарата. Трубки, в которых происходит движение жидкостей, заключены в стеклянный чехол, наполненный водой указанной температуры и закрытый с обеих сторон пробками. Сквозь эти пробки проходят две совершенно одинаковые стеклянные трубочки, а с одной стороны вставлен термометр. Трубки в средней части вытянуты в капилляр, тогда как оба конца слегка расширены; один из концов на той и другой трубочке имеет деления от 0 до 7. После того как чехол наполнен водой температурой в  $20^{\circ}$ , в неградуированную часть одной из трубочек насасывают кровь из укола в палец (см. взятие крови в предыдущем способе), наполняя ее до начала капиллярного сужения; во вторую трубочку точно так же набирают дистиллированную воду. Аппарат держат при этом так, что градуированные концы пипеток обращены кверху. Слегка наклоняя аппарат и регулируя продвижение жидкостей закрыванием другого конца трубочек пальцем, доводят кровь и воду до метки 0. После этого быстрым движением переворачивают аппарат так, что градуированная часть трубочек оказывается внизу. Наблюдают за продвижением кровяного столбика: когда он достигнет метки 1, переводят аппарат в горизонтальное положение. Цифра, до которой за то же время продвинется вода, и означает относительную вязкость крови. Работая с менее вязкими жидкостями (плазма, сыворотка), можно дать им продвигаться до метки 2 или 3; наоборот, очень вязкие жидкости доводят только до  $0,5-0,7$ .

Мытье капилляров производится так же, как в предыдущем аппарате. Вязкость крови зависит от многочисленных факторов: например, от количества и объема эритроцитов; поэтому вязкость понижена при анемиях с нормальной или уменьшенной величиной эритроцитов и значительно меньше понижена при злокачественном малокровии. Значительное увеличение количества лейкоцитов, конечно, тоже увеличивает вязкость. Имеется несомненный параллелизм между количеством гемоглобина и вязкостью; далее, имеют значение вязкость сыворотки или плазмы и содержание в крови углекислоты. Ввиду тесной связи между вязкостью и состоянием красной крови, определение одной только вязкости не может иметь диагностического значения. В то же время определение вязкости может служить для контроля счисления крови; так, например, высокой цифре гемоглобина и большой вязкости не может соответствовать малое число эритроцитов и т. д. При нормальных условиях вязкость крови колеблется у мужчин от 4,3 до 5,3, у женщин — от 3,9 до 4,9, вязкость сыворотки — от 1,7 до 2,0, вязкость плазмы — от 1,9 до 2,3.

Большой интерес возбудило определение вязкости при гипертонии и при самопроизвольной гангрене, где она бывает повышена. Повышение отмечается также при полицитемии, лейкемии, желтухе, пневмонии, иногда при диабете, понижение — при анемиях, соответственно понижению количества эритроцитов и гемоглобина и размеру эритроцитов.

Повышение вязкости крови отмечается обычно также при расстройстве сердечной деятельности; если одновременно имеется малокровие, то



вязкость крови выше, чем соответствовало бы ее клеточному составу (относительное повышение вязкости); исключение составляет базедова болезнь.

Вязкость сыворотки или плазмы зависит в первую очередь от количества белка, далее, от состава солей и т. п. Соотношение между вязкостью исследуемой сыворотки с определенным количеством белка и нормальной сывороткой с тем же количеством белка называют удельной вязкостью сыворотки; она понижена при недостаточности почек и сердечной декомпенсации, а также при инфекционных заболеваниях и повышена при одышке.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЪЕМА ЭРИТРОЦИТОВ

Под объемом эритроцитов понимают отношение объема всех форменных элементов к какому-нибудь определенному объему цельной крови. Последний принимают за 100, так что объем форменных элементов выражается в процентах объема цельной крови. Таким образом, определение объема форменных элементов одновременно дает и соотношение между этим объемом и объемом плазмы. Подмена одной величины другой — объема всех форменных элементов объемом эритроцитов — не имеет значения, если количество лейкоцитов не отклоняется резко от нормального; объем лейкоцитов совместно с объемом тромбоцитов представляет в этих случаях такую малую часть объема всех форменных элементов, что ошибка, обусловленная их присутствием, не превышает предела ошибок всех других способов определений. То же относится и к лейкоцитозам в обычных границах. Иначе обстоит дело, если имеется лейкомия, тем более что это заболевание сопровождается обычно и уменьшением количества эритроцитов; кроме того, размер каждого лейкоцита значительно больше, чем эритроцита. В случаях лейкомий, следовательно, нельзя, пользуясь описанным ниже способом определения, называть полученную величину объемом эритроцитов.

Для определения объема эритроцитов пользуются капилляром в 3,5 см длины, разделенным на 100 частей, с просветом в 0,5 мм. В этот капилляр, смоченный оксалатом и осушенный, набирают кровь, помещают капилляр в специальное приспособление на быстроходной центрифуге (гематокрит) и тотчас центрифугируют. Обычно при 3000 оборотов можно считать центрифугирование законченным через 60 минут: дальнейшее центрифугирование уже не уменьшает столбика эритроцитов. Объем эритроцитов отсчитывается по делениям капилляра.

Можно определять объем эритроцитов в градуированной центрифужной пробирке, пользуясь обыкновенной быстроходной центрифугой; само собой разумеется, что в этом случае приходится брать кровь из вены.

Определением объема эритроцитов пользуются в клинике во многих случаях: для определения объема циркулирующей крови, для определения распределения того или иного химического вещества между эритроцитами и плазмой и для определения объема одного эритроцита. С последней целью полученную после центрифугирования абсолютную величину делят на все количество содержащихся в этом объеме эритроцитов, причем количество эритроцитов устанавливают обычным вычислением в камере. Зная объем эритроцитов, можно вычислить так называемый объемный показатель. Он выражается отношением:

$$\frac{\text{Найденный объем эритроцитов}}{\text{Нормальный объем эритроцитов}} : \frac{\text{Найденное количество эритроцитов}}{\text{Нормальное количество эритроцитов}}$$



мен-  
ви.  
вы-  
ение  
жду  
ой —  
зна-  
ного;  
этих  
что  
ибо  
озам  
тем  
оли-  
льио  
пья,  
нную  
5 см  
ляр,  
ляр  
крит)  
тать  
руги-  
итов  
жной  
о со-  
и.  
ногих  
тения  
тами  
едней  
делят  
м ко  
мере  
мны

жной  
о со-  
ы.  
югих  
ления  
итами  
едней  
делят  
м ко  
мере  
мный



жидкость окрашена в желтоватый цвет. Первая пробирка с самым слабым окрашиванием — это тот раствор, в котором растворяются только самые неустойчивые эритроциты (минимальная резистентность).

Прибегать к предварительному промыванию эритроцитов для исключения влияния сыворотки нежелательно, так как клетки поглощают из физиологического раствора некоторое количество соли и оказываются вследствие этого более резистентными. Центрифугирование эритроцитов для отделения от плазмы сопряжено со значительной травмой и делает их менее резистентными.

Несколько сложнее микроскопический способ Яновского. Обычными смесителями для эритроцитов берут кровь и разводят до метки 101 растворами поваренной соли различной концентрации; Яновский пользовался 0,10; 0,35 и 0,3% растворами. В капилляры, предназначенные для слабых растворов, набирают кровь до метки 1. Подсчет неповрежденных эритроцитов производится через 10 минут. Число неповрежденных эритроцитов показывает количество устойчивых и неустойчивых эритроцитов в данном растворе; этот способ позволяет выразить результат исследования в более точных цифрах и дает более подробную картину резистентности эритроцитов. Нормальные границы резистентности эритроцитов: для минимальной резистентности — от 0,48 до 0,42%, для максимальной — от 0,32 до 0,28%; у детей до 2 лет минимальная резистентность несколько выше, чем у взрослых. У стариков наблюдаются субнормальные цифры.

**Диагностическое значение** определения резистентности эритроцитов невелико. При гемолитической желтухе и некоторых других анемиях гемолитического характера резистентность понижена, при других видах желтухи и анемий повышена.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ СКОРОСТИ ОСЕДАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ

Кровь, тем или иным способом предохраненная от свертывания, при стоянии разделяется на два слоя: нижний, состоящий из осевших на дно эритроцитов, и верхний — из прозрачной плазмы. Это разделение на слои происходит, в зависимости от состояния организма, со скоростью, колеблющейся в чрезвычайно больших пределах. В основе этих колебаний лежат разнообразные изменения состава крови; полной ясности в этом вопросе еще нет. Повидимому, несомненное значение имеет соотношение в сыворотке между фибриногеном и глобулинами, с одной стороны, и альбуминами — с другой. Предполагается, что при различных патологических процессах происходит усиленный распад клеток, в результате чего указанное соотношение сдвигается в сторону крупномолекулярных белков — фибриногена и глобулинов. Частицы их несут менее сильный электрический заряд, чем молекулы мелкодисперсного альбумина, и поэтому менее интенсивно отталкиваются одна от другой, легче склеиваются и выпадают в осадок; на этих свойствах их основан ряд испытаний так называемой лабильности (неустойчивости) сыворотки. Эти свойства они сообщают и эритроцитам, на поверхности которых адсорбируются. Эритроциты крови, в которой содержится относительно много фибриногена и глобулинов, легче склеиваются, образуя кучки; в резко выраженных случаях эти красные кучки хорошо видны невооруженным глазом. Будучи более тяжелыми, эти кучки скорее опускаются на дно, чем несклеенные эритроциты. Кроме белкового фактора, однако, имеет значение и ряд других: соотношение между холестерином и лецитином — повышение количества холестерина, как, например, при беременности, ведет к ускорению оседания эритроцитов; все моменты, ведущие к повышению вязкости крови, заме-



дляют оседание; так же действует накопление в крови желчных кислот; и, наконец, количество эритроцитов тоже имеет значение: при малом количестве их (малокровии) оседание всегда ускорено, независимо от вызвавшей его причины; при полицитемии оседание чрезвычайно замедлено.

Техника определения. Способы исследования скорости оседания разделяются на макроскопические и микроскопические. И те, и другие известны в нескольких модификациях, касающихся главным образом аппарата, в котором происходит оседание. Общим во всех способах является то, что к крови прибавляют, чтобы она не свертывалась, раствор лимоннокислого натрия. Раствор лимоннокислого натрия быстро портится, поэтому рекомендуется возобновлять его каждые 2—3 недели. Удобно держать лимоннокислый натрий развешенным по 0,5—1 г и по мере надобности разводить в соответствующем количестве дистиллированной воды. При тех способах, при которых кровь берется из вены, необходимо по возможности избегать застоя, для чего вену сжимают только слегка рукой и сейчас же отпускают, как только игла введена в вену. Если же вена такова, что наложение жгута необходимо, то по введении иглы в вену снимают жгут, спускают несколько кубических сантиметров крови и только после этого набирают ее в шприц.

Кровь смешивают с лимоннокислым натрием всегда в одном и том же соотношении: 4:1; в наиболее распространенном в СССР способе — Панченкова: применяется 5% раствор лимоннокислого натрия. Так как соотношение между количеством крови и лимоннокислого натрия отражается на оседании, то для получения сравнимых между собой результатов для всех определений следует брать всегда раствор одной и той же концентрации. Оба объема — крови и цитрата — должны быть отмерены точно, так как степень разведения крови тоже отражается на скорости оседания. Пипетка должна стоять строго вертикально; уже небольшие отклонения от вертикального положения вызывают резкое изменение скорости оседания.

1) **Микроспособ Панченкова.** Микроспособ Панченкова имеет то преимущество, что кровь берется обычным уколом в мякоть пальца. Аппарат состоит из деревянного штатива и стеклянных капилляров, которые на расстоянии 100 мм от кончика имеют метку 0; это расстояние разделено на миллиметры. Кроме того, на капилляре имеются еще две метки: метка К (кровь) на высоте нулевой точки и метка Р (реактив) — на точке, соответствующей 50 мм. Смочив капилляр предварительно до верха 5% раствором лимоннокислого натрия, набирают до метки Р (до 50 мм) этот раствор и спускают в стеклянную солонку или маленькую пробирочку; затем делают укол мякоти пальца и той же пипеткой набирают два раза кровь до метки К (до верха), спускают в тот же сосудик, смешивают, насыщают в капилляр до 0 и ставят в штатив; соотношение получается то самое: 4:1. Через час отсчитывают в миллиметрах высоту образовавшегося столбика плазмы. Норма — от 4 до 10 мм. Если кровь набирается с трудом, можно ограничиться половинным количеством: лимоннокислый натрий набирают до 0,25, а кровь — до верха; смеси вполне достаточно, чтобы наполнить пипетку.

2) **Способ Вестергрена.** Из локтевой вены берут 1,6 см<sup>3</sup> крови при помощи шприца, в который предварительно набирают 0,4 см<sup>3</sup> 3,8% раствора лимоннокислого натрия; смешивают в стаканчике и набирают в пипетку в 30 см высотой при 3 мм в диаметре с делениями от 0 до 200. Пипетку заполняют до нулевой метки и ставят вертикально в специальный штатив. Определение производится по высоте столбика плазмы, об-



разовавшегося за 1 час. В норме за 1 час образуется столбик в 1—5 мм у мужчин и в 4—7 мм у женщин вне менструации и беременности. Нормальная скорость оседания у детей: в первые 6 месяцев жизни—9—12 мм; от 1 до 3 лет—6—7 мм; от 3 до 6 лет—5—6 мм; от 7 до 8 лет—3—4 мм; от 9 до 14 лет—2—3 мм. У лиц старше 40 лет отмечается постепенно нарастающее ускорение оседания.

3) **Источники ошибок.** Макроскопические способы определения скорости оседания эритроцитов вообще точнее микроскопических; но преимущество последних для больных, в особенности если требуются, как при туберкулезе или остром суставном ревматизме, повторные определения, настолько велико, что именно они, в частности, способ Панченкова, получили в СССР наибольшее распространение. Для того чтобы микроспособ давал те же результаты, что и макроспособ, необходимо, чтобы высота столбика крови в пипетке была не менее 200 мм. В более коротких пипетках оседание происходит медленнее, чем в пипетках Вестергрена. Колебания просвета микропипеток большого значения не имеют.

Даже при применении макроспособов реакция оседания эритроцитов в некоторых случаях дает результат, расходящийся с остальной клинической картиной. Это объясняется тем, что на процесс оседания влияют многие факторы, как внутренние, т. е. связанные с составом самой крови, так и внешние. Как первые, так и вторые недостаточно учитываются. На скорости оседания эритроцитов отражаются из внутренних факторов, помимо основного патологического процесса, в первую очередь прием некоторых лекарств, физиотерапевтические процедуры и характер питания. Замедляют оседание: салициловые препараты, кальций, ртутные, диуретические, хинин, снотворные (люминал). Ускоряют оседание: длительные приемы соды, впрыскивания препаратов серы (на несколько недель) и, возможно, все виды специфической и неспецифической раздражающей терапии, а также всякая вакцинотерапия, серотерапия, переливание крови и т. п. Ускорение оседания, полученное на следующий день после ванн, душей, полного массажа, солнечного лечения, не имеет диагностического значения. В отношении питания: прием пищи перед взятием крови не имеет существенного значения, за исключением, может быть, обильной белковой пищи, которая может вызвать ускорение оседания. В то же время резкая перемена всего пищевого режима, отражающаяся на обмене веществ, повидимому, может отразиться на скорости оседания.

Из внешних моментов, влияющих на скорость оседания, очень большое значение имеет положение пипетки в штативе: пипетка должна стоять строго вертикально; уже небольшие отклонения от вертикального положения вызывают изменение скорости оседания. Далее, необходимо учитывать и температуру воздуха. Значение этого фактора общеизвестно, но известно также, что незначительными колебаниями температуры лабораторного помещения, обычно не превышающими 2—3°, можно пренебречь. Однако колебания в 5° уже оказывают заметное влияние.

Поэтому далеко не безразлично место, где стоят штативы с пипетками; их во многих лабораториях охотно отставляют на край стола или даже на широкие подоконники; но при этом необходимо учитывать зимой влияние отопительных батарей, которые к тому же во многих учреждениях нагреваются именно в утренние часы, влияние открытого окна; летом температура около окна резко различается в солнечные и дождливые дни, если окно на солнечной стороне, и т. п.

Большое значение для скорости оседания имеют остатки спирта или эфира в игле или шприце. Ошибка самого способа как такового тоже



недостаточно учитывается врачами; иначе говоря, даже при полном исключении всех упомянутых выше источников ошибок ускорение с 40 до 45 мм не имеет диагностического значения.

4) **Диагностическое значение.** Ускорение оседания эритроцитов, как ясно уже из самого его происхождения, никоим образом не представляет собой чего-либо специфического для какого-либо определенного заболевания; оно так же мало специфично, как повышение температуры, лейкоцитоз и т. п. Одно из диагностических значений его заключается в том, что ускорение оседания никогда не наблюдается у здоровых; оно позволяет, следовательно, сделать вывод, что неопределенные жалобы больного имеют соответствующие основания. Далее, в некоторых случаях эта реакция дает возможность поставить дифференциальный диагноз между воспалительным процессом и новообразованием, например, в яичнике. Злокачественные новообразования сами по себе тоже могут дать ускорение оседания. Тем не менее для распознавания воспаления ускорение оседания может служить ценным признаком; необходимо только помнить, что ускорение всегда начинается позднее приблизительно на сутки, чем подъем температуры, и в то же время остается ускоренным еще в течение некоторого времени по окончании воспалительного процесса. Значительно больший интерес, чем однократные определения с целью распознавания, имеют повторные определения у одного и того же больного. Относительное замедление или ускорение оседания позволяет сделать вывод об улучшении или ухудшении патологического процесса. Поэтому реакция оседания эритроцитов особенно широко применяется в туберкулезных учреждениях.

Несомненное значение имеют также определения скорости оседания эритроцитов при наблюдении за течением острого ревматического полиартрита. Ускорение оседания держится в некоторых случаях дольше, чем все другие клинические симптомы болезни, и при прочих равных условиях указывает на то, что болезнь еще не закончена и можно опасаться рецидива. Оно может иметь и дифференциально-диагностическое значение: при ревматоидном поражении после скарлатины ускорение выражено слабо; при других ревматоидах оно также никогда не достигает такой степени и не держится так продолжительно, как при остром полиартрите, даже с кратковременным течением.

Значительно менее разработан вопрос о диагностическом значении замедленного оседания.

Замедление оседания было отмечено при желтухе, при неврозах без соматических признаков, при вегетативных неврозах и поражениях межуточного мозга, причем некоторые сопутствующие функциональные расстройства позволяют сделать вывод, что имеется изменение, может быть только функциональное, координационных центров в межуточном мозгу и в области гипоталамуса. Во всех этих случаях замедление оседания идет параллельно альбуминемии сыворотки — сдвигу глобулин-альбуминового коэффициента в сторону альбуминов. Замедленное оседание наблюдается также на определенной стадии восстановления компенсации сердечной деятельности или при незначительной декомпенсации. Далее, замедление оседания отмечено также при некоторых аллергических состояниях.

Практическое значение этих наблюдений заключается, между прочим, и в том, что уже нормальные средние цифры оседания для этих больных являются повышенными и должны учитываться как симптом присоединившегося заболевания.



## ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ

А. ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ К ХИМИЧЕСКОМУ ИССЛЕДОВАНИЮ  
ПОДГОТОВКА ПОСУДЫ ДЛЯ ХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследуя химический состав крови, обычно приходится ограничиваться очень небольшим количеством испытуемого материала; при такой микрохимической работе еще в большей степени, чем при макрохимической, необходимым условием получения правильных результатов являются: пользование действительно химически чистыми реактивами, безукоризненная тщательность при всех манипуляциях и безупречная точность и чистота всей посуды.

Приступая к какому-нибудь новому исследованию, необходимо длительно упражняться в соответствующем методе, по возможности на чистых растворах, концентрация которых точно известна; только после этого можно приступить к практической работе: опыт и навык имеют в микрометодике еще большее значение, чем при обычных химических исследованиях. В особенности это относится к большинству врачей, которые сплошь и рядом приступают к лабораторной работе без достаточной химической подготовки.

Все исследования надо по мере возможности производить посредством двух параллельных определений, из которых берут среднюю величину; само собой разумеется, что если расхождение между обоими определениями велико (больше пределов ошибки, свойственных данному методу), то исследование следует считать неудавшимся.

Кроме того, при значительном большинстве определений одновременно с обработкой исследуемой крови точно так же обрабатывают реактивы, притом в тех же количествах, в каких они применяются при обработке крови. Такой слепой опыт необходим для проверки чистоты реактивов. Полученный в слепом опыте результат учитывают при вычислении концентрации искомого вещества.

В дальнейшем мы приводим только исследования, уже получившие определенное диагностическое значение, причем предпочтительно излагаем методы, не требующие сложных установок и редких реактивов.

1) **Мытье стеклянной посуды.** Стеклянная посуда, которой пользуются для изготовления или отмеривания точных растворов, должна быть безукоризненно чистой и прежде всего хорошо обезжиренной, иначе жидкость остается на стенках в виде капель различного размера. Вследствие этого создается потеря, которую невозможно предвидеть и учесть, тогда как в обезжиренном сосуде потеря всегда одинаковая и учитывается при калибровании сосуда. Для мытья стеклянной посуды пользуются раствором двуххромовокислого калия в концентрированной серной кислоте (около 1%); удобно также иметь заготовленный заранее насыщенный раствор двуххромовокислого калия или натрия и, приступая к мытью, отмерить приблизительно требуемое количество его и прилить равное количество концентрированной серной кислоты (осторожно, так как жидкость сильно разогревается). Такая горячая кислая смесь моет очень хорошо; ею можно пользоваться в дальнейшем с успехом в остывшем виде, пока она не изменит коричневатого-красного цвета на зеленоватый.

Колбы и бюретки наливают кислой смесью на сутки или на несколько часов, пипетки на такой же промежуток времени погружают в цилиндр, наполненный ею, после чего следует тщательное мытье водопроводной и



ополаскивание дистиллированной водой. Бюретки хорошо отмываются также намыленным ершиком водопроводной и дистиллированной водой.

Если на стенке пипетки образовался белковый осадок из высохшей сыворотки или крови, то лучше предварительно положить пипетку в едкую щелочь (натр или кали). Осадок, остающийся после азотнокислого серебра, хорошо отмывается азотной кислотой, а коричневое окрашивание после марганцовокислого калия — сернистой кислотой.

Для некоторых определений приходится обрабатывать посуду паром. Это проще всего сделать следующим образом: в большую колбу наливают воду и кипятят на пламени горелки. Колбу закрывают пробкой, сквозь которую проходит воронка с широким стержнем. Через этот стержень проходит стеклянная трубка, на которую и опрокидывают подлежащий обработке сосуд; трубка удерживается плотно охватывающей ее резиновой пробкой, лежащей на коротком отрезке широкой стеклянной трубки и ватном валике.

**2) Проверка мерной стеклянной посуды.** Точной стеклянную посуду — мерные колбы, бюретки, пипетки — можно считать только в том случае, если ее точность была проверена. Сосуд можно признать удовлетворительно точным, если ошибка не превышает 0,1%. Калибровать сосуд можно, только если он удовлетворяет определенным условиям. Эти условия при выборе колбы для калибрования таковы: метка, до которой колбу надлежит заполнять, должна помещаться не на месте перехода расширенной части в шейку, а на самой шейке; шейка должна быть по возможности цилиндрической; диаметр шейки должен быть таков, чтобы количество жидкости, соответствующее 0,001 емкости колбы (допустимая ошибка), вызывало ясное, заметное простым глазом изменение уровня. Отсчитывание должно производиться для неокрашенных жидкостей по нижнему мениску, для окрашенных, например, для раствора марганцовокислого калия, — по верхнему уровню жидкости. Калибрование колб производится водой: наливают то количество воды по весу, которое требуется для заполнения определенного объема при данной температуре воды. Точность взвешивания воды должна соответствовать 1:1000, т. е. при калибровании колбы емкостью в 1 л можно взвешивать с точностью в 1 г, а колбу емкостью в 10 см<sup>3</sup> нужно взвешивать уже с точностью до 0,01 г. Вода и колба должны иметь одинаковую устойчивую температуру; для этой цели они должны некоторое время находиться в одном и том же помещении. Сухую, чистую, обезжиренную колбу взвешивают, вычисляют вес воды, соответствующий желаемому объему при данной температуре (табл. 20), и наливают воды до этого веса, где и ставят метку; на шейке не должно оставаться водяных капель.

Точно так же калибруют бюретки и пипетки. В последних имеют значение диаметр трубки и величина отверстия, через которое вытекает жидкость, поскольку от скорости вытекающей жидкости зависит ее количество, остающееся на стенках: чем скорее вытекание, тем больше остается на стенках и наоборот. Чтобы вытекание было таким медленным, кончик пипетки должен быть очень узким, что в массовой работе замедляет набирание жидкости; в таких случаях пользуются пипетками и с более широким отверстием, искусственно замедляя вытекание пальцем, зажимая им верхнее отверстие пипетки и приоткрывая его лишь настолько, чтобы вытекание происходило с достаточной медленностью. Палец должен быть мягким, но отнюдь не влажным, ибо иначе точное регулирование скорости вытекания невозможно. В отношении пипеток важно еще установить способ их опорожнения. При простом вытекании в кончике всегда остается капля жидкости; чтобы ем-



Таблица 20

*Вес воды при различных температурах*

Температура воды	Вес		
	1 000 см <sup>3</sup>	500 см <sup>3</sup>	250 см <sup>3</sup>
15° . . . . .	998,05	499,03	249,51
16° . . . . .	997,90	498,95	48
17° . . . . .	74	87	43
18° . . . . .	56	78	39
19° . . . . .	38	69	34
20° . . . . .	18	59	30
21° . . . . .	996,97	49	24
22° . . . . .	76	38	11
23° . . . . .	53	26	13
24° . . . . .	29	15	07
25° . . . . .	04	02	01
26° . . . . .	995,79	497,89	248,95

кость пипетки каждый раз была одна и та же, эта капля, очевидно, всегда должна иметь один и тот же размер для данной жидкости. Способов опорожнения имеется несколько. По окончании свободного вытекания жидкости кончиком пипетки прикасаются к стенке сосуда, в который переносится жидкость, и удерживают пипетку в таком положении около 30 секунд. Вытекает еще некоторое количество жидкости, после чего в кончике остается капля, размер которой зависит от удельного веса, вязкости и поверхностного натяжения жидкости; для пипеток в 5 см<sup>3</sup> и больше в отношении обычно употребляемых жидкостей ошибка не превышает допустимых пределов (0,1%). Можно также с самого начала прикасаться кончиком пипетки к стенке сосуда и по окончании вытекания жидкости удерживать ее в том же положении еще около 30 секунд — результат получается тот же. Другой способ состоит в выталкивании последней капли. С этой целью по окончании свободного вытекания жидкости верхнее отверстие пипетки зажимают указательным пальцем правой руки, а левой ладонью плотно охватывают пипетку в средней ее части: согревающийся воздух, расширяясь, выталкивает жидкость. Наиболее точные пипетки снабжены двумя метками — верхней и нижней; требуемое количество жидкости заключается между двумя метками. Нужно во всех случаях пользоваться в отношении данной пипетки и данной жидкости одним и тем же способом опорожнения.

В лабораториях применяют еще другой вид пипеток — градуированные на всем протяжении; они отличаются от бюреток более узким диаметром. Градуированными пипетками обычно пользуются в тех случаях, когда требуется отмерить такое количество жидкости, на какое не существует пипеток с одной (или двумя) меткой. При употреблении градуированных пипеток надо избегать пользоваться кончиком, предпочитая набирать каждый раз доверху (до нулевой метки). Таким образом, если нужно градуированной пипеткой емкостью в 10 см<sup>3</sup> отмерить 7,5 см<sup>3</sup>, то спускают жидкость от 0 до 7,5, а не от 2,5 до конца.

Проверка бюреток производится таким образом, что воду определенной температуры наливают несколько выше верхней метки (0) и спускают до этой метки; выжидают минуту, наблюдая, не поднимается ли мениск; если нужно, еще спускают воду; снимают с кончика бюретки оставшуюся каплю. Спускают 2 см<sup>3</sup> (или меньше, см. ниже) воды в вешенный сосуд; взвешивают выпущенное количество; вычисляют по таблице размер



ошибки. Количество выпускаемой за один раз воды колеблется в зависимости от общей емкости бюретки: для бюреток в 25 и 50 см<sup>3</sup> достаточно порций в 2 см<sup>3</sup>, для меньших — порций, соответствующих  $\frac{1}{10}$  их емкости.

Микробюретки емкостью от 1 до 3 см<sup>3</sup> применяются для особенно точного отмеривания жидкости. Для мытья микробюретку наливают кислой смесью (см. выше) на несколько часов, затем промывают водопроводной и дистиллированной водой, пока вытекающие капли не будут иметь нейтральной реакции. Вне употребления бюретку хранят закрытой от пыли опрокинутым стеклянным стаканчиком или бумажным колпачком. Тщательное обезжиривание здесь особенно необходимо; неполное вытекание вносит большую ошибку.

Лучше, однако, калибровать микрохимические приборы не водой, а ртутью: ртуть не испаряется и не задерживается в кончике пипетки или бюретки. Кроме того, поскольку ртуть в 13,57 раза тяжелее воды, то малый объем ее может быть отвешен с большей точностью, чем такой же объем воды. При калибровании ртутью необходимо вносить «двойную поправку на мениск», так как ртуть в противоположность воде образует не вогнутый мениск, а выпуклый и отсчет производится по верхней точке ртутного купола. Величина этой поправки зависит от диаметра трубки. Для бюретки диаметром в 1,5 мм пространство между нижним мениском воды и верхним мениском ртути равно 14 мм<sup>3</sup>; следовательно, при емкости в 0,2 см<sup>3</sup> она должна вмещать не  $(0,2 \times 13,57 =) 2,74$  г ртути, а  $[(0,2 - 0,0014) \times 13,57 =] 2,695$  г ртути.

Таким образом, чтобы узнать, где следует поставить (или где должна была бы быть поставлена) верхняя метка на микробюретке емкостью в 3 см<sup>3</sup>, имеющей диаметр в 4 мм, отвешивают  $(3,0 - 0,108) \times 13,57$  г ртути, наполняют ею бюретку и ставят черту соответственно верхнему краю мениска ртути; эта же черта будет при работе служить для нижнего мениска воды. Так как ртуть в отличие от воды не смачивает стенок сосуда, то из сухого измерительного прибора (бюретки или пипетки), рассчитанного на выливание, вытекает больше ртути, чем воды, часть которой остается на стенках. Поэтому бюретку или пипетку перед набиранием в нее ртути смачивают водой.

**3) Очистка ртути.** Ртуть должна быть чистой и сухой. Самый примитивный способ следующий. Слегка загрязненную ртуть выливают в широкую чашку и покрывают концентрированной азотной кислотой, разведенной 1:1 водой; через несколько минут сливают кислоту и несколько раз промывают ртуть водой, наливая и сливая ее до нейтральной реакции. Далее, следует просушивание ртути: на тяжелом железном штативе с широкой подпоркой укрепляют одну под другой две небольшие стеклянные воронки так, чтобы стержень верхней воронки находился несколько ниже края нижней (входил в нее). В обе воронки кладут сложенную в несколько слоев фильтровальную бумагу, кончиком булавки проделывают в фильтре отверстие. Под нижнюю воронку ставят чистую бутыл, достаточно большую, чтобы вместить ртуть. Наливают ртуть в верхнюю воронку так, чтобы она тонкой струей капала в нижнюю и из нее в бутыл. Если ртуть еще не достаточно суха, пропускают ее через фильтры вторично.

**4) Промывание фильтров с пластинкой из стекла.** Эти фильтры заменяют бюхнеровские воронки. Мыть их в обычной кислой смеси не рекомендуется. Их нужно тщательно промыть горячей дистиллированной водой и погрузить в концентрированную серную кислоту, к которой прибавлено немного азотнокислого и хлорнокислого натрия ( $\text{NaClO}_4$ ); нагревают



до 80 — 90° и оставляют в этом растворе на ночь. На следующее утро тщательно ополаскивают водой и фильтруют сквозь пластинку около 200 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, чтобы уничтожить следы кислоты.

5) **Краны бюреток.** Краны бюреток, служащих для разведенной щелочи, должны быть смазаны; смазывающее вещество берут в минимальном количестве и накладывают его тонким кольцом по обе стороны отверстия; при вращении вставленного на место крана оно равномерно распределяется по всей поверхности; место соприкосновения поверхностей должно быть прозрачным. Перед наложением новой мази старая должна быть тщательно удалена с помощью эфира.

Смазывающее вещество можно изготовить в любой лаборатории из смеси вазелина с небольшим количеством воска (подогреть).

Если бюретки используются для щелочей крепче децинормальных, то жидкость по окончании работ должна быть удалена и бюретка ополоснута. В тех случаях, когда отмеривание щелочи не требует большой точности, можно заменить стеклянный кран резиновой трубкой с зажимом Мора.

6) **Резиновые пробки и трубки.** Резиновые пробки и резиновые трубки часто продаются покрытые тальком, серным цветом или другими веществами, загрязняющими их поверхность. Сначала резиновые предметы моют в воде; через трубку для этого протягивают проволоку с привязанным на конце куском ваты. Когда порошок удален, резину кипятят 5 минут в разбавленной щелочи (приблизительно  $n/2$ ), которую затем отмывают водой; кипятят 5 минут в разбавленной соляной кислоте (1 объем концентрированной соляной кислоты на 25 объемов воды), вновь промывают в проточной воде до нейтральной реакции стекающей жидкости. Трубку удобно ополаскивать, укрепив тут же, на водопроводном кране.

После удаления покрывающего порошка резиновые предметы скоро портятся (поэтому их не заготавливают впрок, а очищают столько, сколько нужно для непосредственного употребления); особенно быстро они становятся сухими и ломкими, если подвергаются действию высокой температуры. Поэтому резину рекомендуется хранить в прохладном месте, лучше всего в плотно закрытой стеклянной банке (экзикаторе), в которой помещена открытая бутылка со скипидаром. Все эти предосторожности особенно важны в летнее время.

## ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ ТОЧНЫХ РАСТВОРОВ

Под точными растворами подразумевают растворы с точностью 1:1 000. Различные растворы неодинаково стойки: некоторые из них требуют проверки при каждом употреблении, другие — каждые три месяца, третьи очень долго не изменяют своего титра. Причиной изменения титра служат поглощение углекислоты, соприкосновение с кислородом, действие света, колебания температуры, влияние щелочи или силикатов из стекла, наконец, развитие плесени. Некоторые из этих факторов можно свести к минимуму. Для этого нужно готовить точные растворы из химически чистых реактивов лучшего качества, сохраняемых в хорошо закрытых банках, которые следует открывать только из время, необходимое для взятия материала. В банку с реактивом следует вводить безукоризненно чистый инструмент, состоящий из материала, не реагирующего с данным реактивом. Избыток взятого материала не следует класть обратно в общую банку; если было взято много больше, чем нужно, то лучше убрать избыток в отдельную банку, конечно, тоже безукоризненно чистую. Последние замечания относятся и к приготовленным уже точным



растворам. Горлышко и пробка бутылки должны перед взятием материала быть тщательно очищены от пыли. Полезно хранить заготовленные растворы на холоду, так как низкая температура задерживает развитие химических реакций, изменяющих титр растворов, а также рост микробов. Светочувствительные растворы следует хранить в бутылках из темного стекла.

Бутылки с раствором щелочи, гипосульфита и некоторых других предохраняют от воздействия угольной кислоты воздуха посредством трубки с натронной известью (рис. 56).

Некоторые точные растворы готовят непосредственно путем точного отвешивания требуемого количества и разведения его в определенном объеме воды (или другой жидкости); другие растворы титруют по первым. Обычно эти растворы не доводят до полной точности, в особенности если они отличаются небольшой стойкостью, а готовят их с приблизительной точностью и при стандартизации вычисляют фактор, указывающий на отношение концентрации теоретического стандарта к действительной концентрации раствора (или наоборот). Фактор всегда вычисляют так, чтобы на него нужно было множить, а не делить. Например, если для нейтрализации 50 см<sup>3</sup> точно приготовленного п/10 раствора соляной кислоты приходится потратить не 50, а 49,5 см<sup>3</sup> п/10 раствора едкого натра, то каждый кубический сантиметр щелочи имеет концентрацию, несколько большую, чем теоретически следует, а именно  $\frac{50}{49,5}$  п/10 раствора. Фактор его будет равен  $\frac{50}{49,5} = 1,010$ . Это означает, что, затратив фактически «а» кубических сантиметров данного раствора NaOH, нужно умножить число «а» на 1,010, чтобы узнать, сколько кубических сантиметров точного п/10 раствора NaOH потребовалось бы в данном случае. Желательно помечать на бутылки вычисленный фактор с указанием дня и месяца, когда он определен.

При стандартизации точных растворов нужно помнить, что каждая бюретка или пипетка дает ошибку в известную долю кубического сантиметра, независимо от общего количества отмеренной жидкости, т. е. ошибку, имеющую некоторую постоянную абсолютную величину и непостоянную в процентном отношении. Поэтому целесообразно при проверке титра пользоваться большим количеством жидкости — наибольшим, какое может быть протитровано без повторного наполнения бюретки.

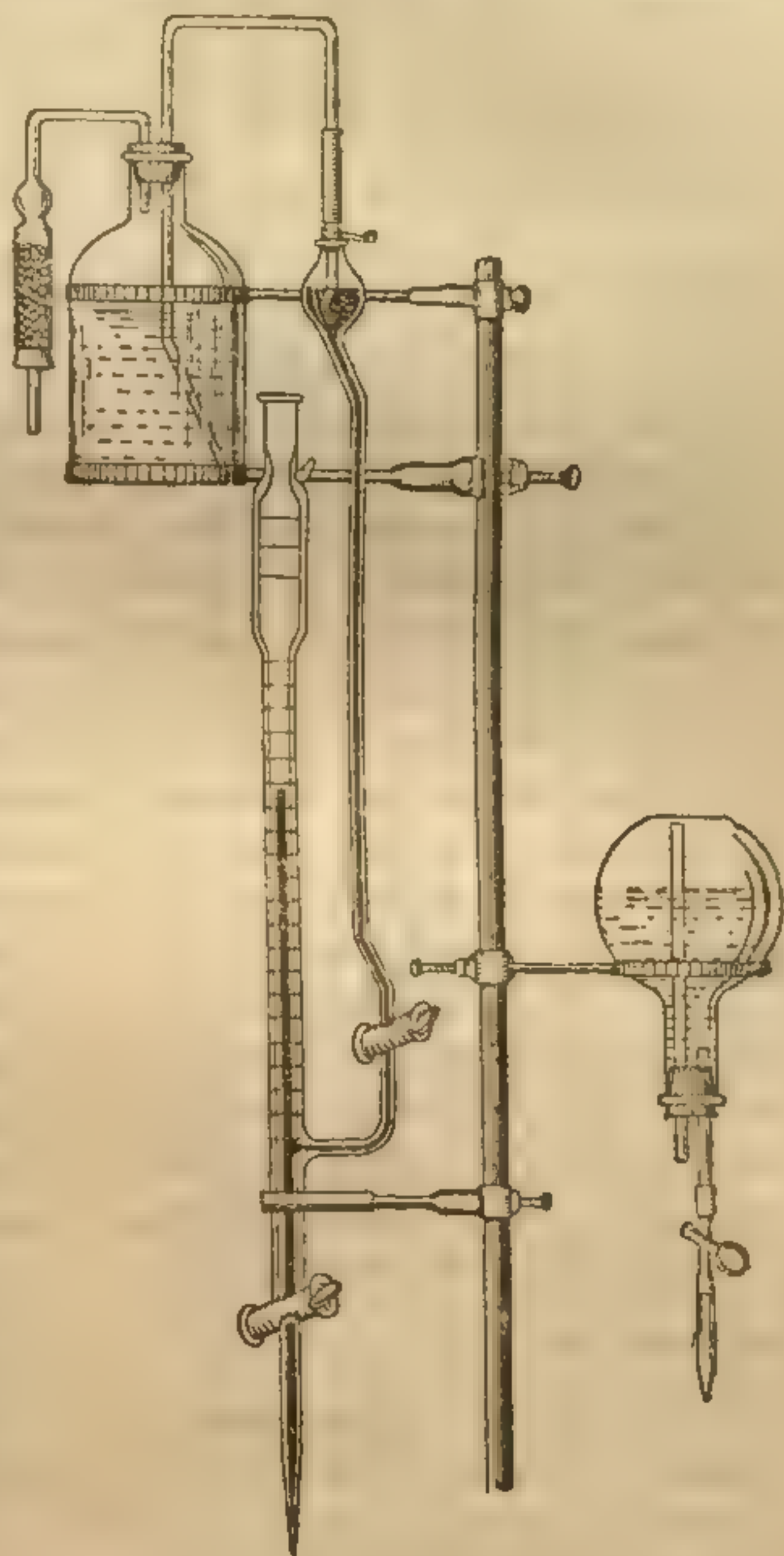


Рис. 55. Бюретка для установления точного титра. Бюретка, соединенная с бутылкой с точным раствором, предохраняемым от непосредственного доступа воздуха; последний нагнетается посредством двойного баллона через трубку с натронной известью и гонит жидкость в бюретку. Справа — флакон с раствором крахмала.



1) Приготовление нормального раствора соляной кислоты. Одна молекула соляной кислоты содержит 1 атом реагирующего водорода и 1 атом хлора; следовательно, 1 л нормального раствора соляной кислоты должен содержать 1 грамм-молекулу, или 36,46 г соляной кислоты. Продажная концентрированная соляная кислота имеет удельный вес 1,19 и содержит в 100 г 36—37 г безводной HCl, или в 1 г будет 0,36 г; отсюда количество граммов продажной HCl, необходимых для 1 л нормального раствора HCl, будет  $\frac{36,46}{0,36} = 101$  г. Но удобнее брать HCl по объему: 101 г продажной HCl удельного веса 1,19, в куб. сантиметрах будет составлять  $\frac{101}{1,19} = 84$  см<sup>3</sup>.

Отсюда, чтобы получить 1 л нормального раствора, надо отмерить в мерную колбу емкостью в 1 л 84 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты и довести дистиллированной водой до метки (см. приложения стр. 767).

Титр приготовленного таким образом раствора соляной кислоты проверяют по навеске углекислого натрия. Около 8 г двууглекислого натрия высушивают в тигле, тщательно избегая спекания и плавления, охлаждают в эксикаторе, взвешивают; вновь нагревают, охлаждают и взвешивают (на аналитических весах), повторяя всю процедуру до получения постоянного веса. Отвешивают на аналитических весах такое количество соды, какое может быть нейтрализовано нормальным раствором соляной кислоты без вторичного наполнения бюретки, т. е. около 2 г; растворяют навеску приблизительно в 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, прибавляют в качестве индикатора 5—6 капель 0,1% водного раствора метилоранжа до слабожелтого окрашивания и приливают из бюретки испытуемый раствор соляной кислоты до перехода желтого цвета в оранжевый, причем следующая капля кислоты должна давать уже чисто розовое окрашивание. Вычисляют концентрацию кислоты. Если навеска соответствовала 2,1132 г углекислого натрия (молекулярный вес 103,00), то для нейтрализации ее должно было пойти  $\frac{2,1132 \cdot 1000}{53,00} = 39,87$  см<sup>3</sup> нормального раствора соляной кислоты при 15° или с поправкой на 19°—39,90 см<sup>3</sup>.

Предположим, что на самом деле было затрачено только 39,20 см<sup>3</sup> испытуемой кислоты; концентрация последней, следовательно, выше требуемой, и для ее исправления необходимо прибавить на каждые 39,20 см<sup>3</sup> кислоты 0,70 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, а к 1 л  $\frac{0,70 \cdot 1000}{39,20} = 17,86$  см<sup>3</sup>.

Наполняют сухую мерную колбу емкостью в 1 л кислотой точно до метки, прибавляют из бюретки или точной пипетки 17,86 см<sup>3</sup> воды, смешивают и вновь проверяют титр по нескольким навескам соды. Предположим, что на другую отвешенную пробу соды пошло вместо вычисленных 40,10 см<sup>3</sup> кислоты 40,15 см<sup>3</sup>; концентрация испытуемой кислоты, следовательно, во столько раз слабее нормального раствора, во сколько 40,10 меньше 40,15 г. Фактор, на который следует умножать потраченное фактически количество кубических сантиметров, соответствует  $\frac{40,10}{40,15} = 0,9988$ . Это число записывают на этикетке бутылки.

Стандартизация других кислот производится по соляной кислоте: отмеривают пипеткой 20 или 25 см<sup>3</sup> титрованного раствора соляной кислоты в стаканчик, прибавляют индикатор и приливают из бюретки едкий натр приблизительно того же титра. Той же пипеткой отмеривают испытуемую кислоту в другой стаканчик, прибавляют тот же индикатор, что и в первый раз, и в том же количестве и титруют той же щелочью из той же бюретки, наполняемой каждый раз точно до нулевой черты.



Более слабые растворы кислот готовят из децинормальных. Титр слабых растворов кислот постепенно уменьшается вследствие отдачи стеклом щелочи.

2) Приготовление децинормального раствора янтарной кислоты. Для проверки раствора едкого натра и щелочей вообще лучше всего употреблять янтарную кислоту, которая кристаллизуется без воды; поэтому высушивание ее необходимо производить на воздухе между листами фильтровальной бумаги, а также в эксикаторе. Навеску берут 5,9 г на 1 л воды.

3) Приготовление децинормального раствора едкого натра. Чтобы избежать загрязнения карбонатами, титрованный раствор готовят не непосредственно из едкого натра, а из его насыщенного раствора.

Растворяют некоторое количество химически чистого едкого натра в равном по весу количестве воды, чтобы получить насыщенный раствор. Раствор сильно разогревается; стакан из простого стекла при этом нередко лопается, поэтому при приготовлении большого количества необходимо пользоваться стаканом из тугоплавкого стекла или фарфоровой посудой. По охлаждении раствор переливают в бутылку или цилиндр и закрывают парафинированной пробкой. Углекислый натрий почти нерастворим в таком крепком растворе едкого натра и в течение нескольких дней выпадает на дно; отстоявшимся прозрачным раствором можно пользоваться для приготовления  $n/10$  раствора. Отмеривают 7,5 см<sup>3</sup> прозрачной жидкости в мерную колбу емкостью в 1 л и доводят дистиллированной водой до метки. Для стандартизации приготовленного таким образом раствора его наливают в бюретку; отмеривают в стаканчик 20 или 25 см<sup>3</sup> точного  $n/10$  раствора кислоты, прибавляют индикатор и титруют. Фактор испытуемого раствора вычисляют, как указано выше:

$$\Phi = \frac{\text{количество отмеренной кислоты}}{\text{количество потраченной щелочи}}.$$

Всякое титрование производят в нескольких порциях и для вычисления берут среднюю величину.

Если фактор больше единицы, т. е. раствор слишком концентрирован, то его не трудно сделать точным, разводя согласно вычислению. Если, например, имеется 950 см<sup>3</sup> раствора едкого натра с фактором 1,028, то надо довести объем до  $(950 \times 1,028 =) 977$  см<sup>3</sup>. Если раствор приготовлен, как было указано, на 7,5 см<sup>3</sup> концентрированного раствора NaOH, то фактор его обычно соответствует 1,02—1,04. Титр разбавленного, согласно вычислению, раствора вновь стандартизируют по кислоте.

При стандартизации растворов щелочи целесообразно титровать щелочью кислоту, а не наоборот: щелочь менее страдает от соприкосновения с углекислотой воздуха, когда ее наливают в бюретку, чем когда ее отмеривают пипеткой и взбалтывают во время титрования; кроме того, при приливании щелочи в кислоту цвет раствора изменяется из бесцветного в окрашенный или из более светлого в более темный, что легче заметить, чем обратный переход.

В качестве индикатора, применяемого для стандартизации щелочных концентрированных растворов, предпочтительно пользоваться метилоранжем, метилротом или ализаринротом; при титровании слабых растворов можно пользоваться фенолфталеином.

Бутылку закрывают пробкой, к которой присоединена пробирка с натронной известью. Проверять титр следует не реже одного раза в месяц; более слабые растворы требуют еще более частой проверки.



Растворы едкого натра, более слабые, чем  $n/10$ , должны готовиться в небольшом количестве — не более чем на 3—4 недели; хранить их следует в склянке, обработанной в течение 15 минут паром; в бюретке они не должны стоять больше нескольких часов.

4) Приготовление децинормального раствора марганцовокислого калия. Нормальный окисляющий раствор окисляет 1 грамм-атом водорода или его эквивалент. В реакции  $2\text{KMnO}_4 + 5\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 + 3\text{H}_2\text{SO}_4 = \text{K}_2\text{SO}_4 + 2\text{MnSO}_4 + 10\text{CO}_2 + 8\text{H}_2\text{O}$  каждая молекула марганцовокислого калия окисляет 5 атомов водорода щавелевой кислоты, поэтому растворы марганцовокислого калия должны быть  $1/5$ -молярными, т. е. 1 л  $n/10$  раствора должен содержать 3,158 г  $\text{KMnO}_4$  (см. приложения стр. 770).

Воду, которая предназначается для изготовления раствора, предварительно кипятят с несколькими кристалликами марганцовокислого калия для разрушения органических соединений. Отвешивают на аптечных весах 3,3 г марганцовокислого калия, растворяют в приготовленной описанным образом воде в мерной колбе емкостью в 1 л, доводят той же водой до метки.

В первые дни после приготовления концентрация  $n/10$  раствора марганцовокислого калия постепенно уменьшается; титр его становится постоянным только спустя приблизительно 2 недели. Поэтому изготовленный, как указано, раствор хранят 14—16 дней при комнатной температуре в темном месте. Фильтруют сквозь стеклянную вату или стеклянный фильтр. Приготовленный таким образом раствор стоек. Титр его устанавливают по  $n/10$  раствору гипосульфита. Отмеривают 20 см<sup>3</sup> испытуемого раствора, подкисляют разведенной серной кислотой, прибавляют 10 см<sup>3</sup> 10% раствора иодистого калия и несколько капель крахмала и титруют до полного обесцвечивания:



Вычисление фактора производится так же, как было указано выше.

Можно также проверять титр марганцовокислого калия по раствору щавелевой кислоты или щавелевокислого натрия; растворы последнего более стойки, тогда как титр щавелевой кислоты необходимо ежедневно проверять.

К 20 см<sup>3</sup>  $n/10$  раствора щавелевой кислоты, отмеренной в эрленмейеровскую колбу емкостью в 500 см<sup>3</sup>, приливают 15 см<sup>3</sup> разведенной 1:3 серной кислоты (к 3 объемам дистиллированной воды приливают 1 объем концентрированной серной кислоты и 200 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, предварительно нагретой до 70°). Испытуемый раствор марганцовокислого калия наливают в бюретку и титруют им щавелевую кислоту, приливая его до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 минуты. Если титрование происходит медленно, так что раствор в колбе успел остыть, то нужно вновь нагреть его до 70°, прежде чем закончить титрование. Титр раствора вычисляется по общим правилам:

$$\Phi = \frac{\text{количество см}^3 \text{ } n/10 \text{ щавелевой кислоты}}{\text{количество см}^3 \text{ марганцовокислого калия}}.$$

В отношении раствора марганцовокислого калия обычно не производят исправления титра, как это было описано для едкого натра, даже если концентрация его была слишком велика, а пользуются приготовленным раствором, получая искомую величину  $n/10$  раствора путем умножения количества потраченных кубических сантиметров данного раствора на фактор.



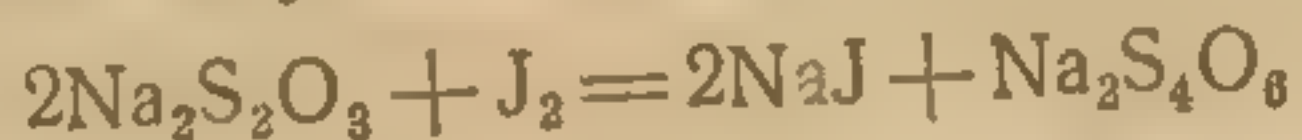
При изготовлении  $n/10$  раствора фактор может быть учтен, чтобы избежать внесения поправки. Предположим, что при титровании  $20 \text{ см}^3$   $n/10$  раствора марганцовокислого калия было потрачено  $20,4 \text{ см}^3$   $n/10$  раствора гипосульфита. Изготовленный раствор, следовательно, в  $\frac{20,4}{20}$  раз концентрированнее, чем требуется. Отсюда при отмеривании  $10 \text{ см}^3$  для изготовления  $100 \text{ см}^3$   $n/10$  раствора вместо  $10 \text{ см}^3$  следует взять  $\frac{10 \cdot 20}{20,4} = 9,8 \text{ см}^3$ .

Более слабые растворы готовят из децинормального; если они были приготовлены после стабилизации децинормального раствора и хранятся в темноте, то титр их не изменяется около месяца, а иногда и значительно дольше. Все же его проверяют каждый раз перед употреблением по раствору щавелевой кислоты или щавелевокислого натрия такого же титра, приготовленному из децинормального.

5) Приготовление децинормального раствора щавелевой кислоты или щавелевокислого натрия для стандартизации растворов марганцовокислого калия. Хорошие препараты щавелевокислого натрия отличаются большой стойкостью как в сухом виде, так и в растворе. Соль безводна; для приготовления  $n/10$  раствора отweighивают точно  $6,7 \text{ г}$  и разводят до  $1 \text{ л}$  дистиллированной водой.

Щавелевую кислоту перекристаллизовывают, сушат между листами фильтровальной бумаги и быстро делают навеску; при такой обработке щавелевая кислота содержит 2 молекулы кристаллизационной воды, и для приготовления  $n/10$  раствора необходимо сделать навеску  $6,3023 \text{ г}$  щавелевой кислоты на  $1 \text{ л}$  воды. При стоянии щавелевая кислота теряет кристаллизационную воду, и для приготовления раствора ее необходимо каждый раз подвергать перекристаллизации.

6) Приготовление децинормального раствора гипосульфита натрия. При титровании гипосульфита натрия с иодом:



одна молекула гипосульфита окисляется одной молекулой иода. Поэтому  $n/10$  раствор гипосульфита при реакции с иодом децинормален. Следовательно, можно отвесить  $24,82 \text{ г}$  гипосульфита на  $1 \text{ л}$  дистиллированной воды. Чистота препарата и количество кристаллизационной воды не всегда одни и те же; поэтому нельзя полагаться на точность раствора, приготовленного по весу, а необходимо стандартизировать по  $n/10$  раствору иодноватокислого (или двуиодноватокислого) калия или марганцовокислого калия.

Отмеривают  $25 \text{ см}^3$   $n/10$  раствора иодноватокислого калия в эрленмейеровскую колбу, прибавляют около  $10 \text{ см}^3$   $10\%$  раствора иодистого калия (KI) и около  $20 \text{ см}^3$   $n/10$  раствора серной или соляной кислоты. Приливают из бюретки испытуемый раствор гипосульфита. Когда раствор в колбе становится слабожелтым, приливают  $1 \text{ см}^3$  раствора крахмала и продолжают титрование до полного исчезновения синего окрашивания:

$$\Phi = \frac{\text{количество см}^3 \text{ иодноватокислого калия}}{\text{количество см}^3 \text{ гипосульфита}}$$

Если в лаборатории нет титрованного раствора иодноватокислого калия, то можно прибегнуть к стандартизации посредством раствора марганцовокислого калия. В эрленмейеровскую колбу помещают  $1-2 \text{ г}$  марганцовокислого калия, растворяют его в минимальном количестве дистиллированной воды, подкисляют  $5 \text{ см}^3$  разведенной соляной кислоты ( $1$  объем концентрированной соляной кислоты на  $5$  объемов дистиллированной воды)

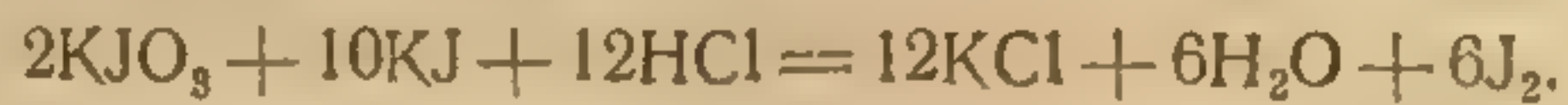


и приливают 25 см<sup>3</sup> n/10 раствора марганцовокислого калия. Титруют из бюретки гипосульфитом, прибавляют крахмал, как указано выше. Фактор раствора вычисляется по общим правилам.

Растворы гипосульфита изменяют титр, вследствие окисления кислородом воздуха и разложения микроорганизмами; последнее можно предупредить прибавлением амилового алкоголя в количестве 10 см<sup>3</sup> на 1 л гипосульфита. Рекомендуется также готовить растворы гипосульфита на стерильной воде и наливать в обработанную высокой температурой посуду. При этих условиях децинормальный раствор гипосульфита натрия стойк в течение нескольких месяцев; все же необходимо систематически его проверять.

Более слабые, чем n/10, растворы гипосульфита натрия готовят из децинормального и каждый раз перед употреблением проверяют титр по одному из указанных способов, пользуясь растворами того же титра, приготовленными из децинормальных. Сказанное выше относительно воды и посуды применимо и к слабым растворам. Кроме того, они разлагаются тем быстрее, чем меньше раствора осталось в склянке (объем соприкасающегося с раствором воздуха).

7) Приготовление децинормального раствора иодноватокислого калия ( $K_2O_3$ ) или двуиодноватокислого калия [ $KH(IO_3)_2$ ] для стандартизации растворов гипосульфита. Каждая молекула иодноватокислого калия, вступая в реакцию с избытком иодистого калия в присутствии кислоты, освобождает 6 атомов иода.



Поэтому нормальный раствор должен содержать  $\frac{1}{6}$  граммолекулы вещества. Отвешивают 3,567 г иодноватокислого калия или 3,250 г двуиодноватокислого калия, растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, переносят раствор количественно в мерную колбу емкостью в 1 л и доводят дистиллированной водой до метки. В хорошо закупоренной бутылке, сохраняемой в прохладном месте, раствор сохраняет свой титр почти неограниченно долгое время.

8) Приготовление децинормального раствора иода. Теоретически на 1 л децинормального раствора требуется 12,69 г иода. Отвешивают несколько большее количество — 13 г — с удовлетворительной точностью; отвешивают также 25 г иодистого калия и растворяют последний в возможно меньшем количестве воды. В этом растворе растворяют отвешенный иод, переносят количественно в мерную колбу емкостью в 1 л и доводят водой до метки. Титр устанавливают по n/10 раствору гипосульфита. Фактор вычисляют, как было описано выше. Раствор хранят в темной бутылке. Титр нестойк и требует проверки каждый раз перед работой. Более слабые растворы готовят каждый день перед началом работы.

9) Приготовление молярных растворов фосфатов. Чтобы не зависеть при приготовлении молярных растворов фосфатов от содержания кристаллизационной воды в различных препаратах, рекомендуется готовить их из молярного раствора фосфорной кислоты.

Около 60 см<sup>3</sup> 85% фосфорной кислоты (удельного веса 1,70) разводят дистиллированной водой в мерной колбе емкостью в 1 л до метки. Отмеривают 20 см<sup>3</sup> этого раствора в эрленмейеровскую колбочку, прибавляют 5—6 г химически чистого хлористого натрия и несколько капель насыщенного водного раствора метилоранжа и титруют нормальным раствором едкого натра до исчезновения красного окрашивания. Исправляют титр фосфорной кислоты. Если, например, при титровании 20 см<sup>3</sup> фосфорной кислоты было потрачено 22,5 см<sup>3</sup> нормального раствора едкого



натра, то нужно развести фосфорную кислоту согласно уравнению:

$$20:22,5 = x:1\,000, \text{ откуда } x = \frac{20 \cdot 1\,000}{22,5} = 888,8.$$

Следовательно, нужно 888,88 см<sup>3</sup> этой фосфорной кислоты довести в мерной колбе водой до 1 л, чтобы получить точный молярный раствор.

Чтобы получить 1/15 мол. раствор однозамещенного фосфорнокислого калия (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), в мерную колбочку емкостью в 150 см<sup>3</sup> отмеривают 10 см<sup>3</sup> молярной фосфорной кислоты и 10 см<sup>3</sup> нормального раствора едкого кали и доводят водой до метки. Аналогичным образом получают 1/15 мол. раствор однозамещенного фосфорнокислого натрия.

Чтобы получить 1/15 раствор двузамещенного фосфорнокислого натрия (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O), в мерную колбу емкостью в 150 см<sup>3</sup> отмеривают 10 см<sup>3</sup> фосфорной кислоты и 20 см<sup>3</sup> нормального раствора едкого натра.

Аналогичным образом готовят 1/15 мол. раствор двузамещенного фосфорнокислого калия.

## ПРИГОТОВЛЕНИЕ БУФЕРНЫХ СМЕСЕЙ

1) **Фосфатные буферные смеси.** Исходные растворы: 1/15 мол. раствор однозамещенного фосфорнокислого калия, приготовленного, как указано выше, или путем растворения 9,078 г KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> в 1 л дистиллированной воды, и 1/15 мол. раствор двузамещенного фосфорнокислого натрия, приготовленного, как указано выше, или путем растворения 11,876 г Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O в 1 л дистиллированной воды. Продажный препарат содержит не 2, а 12 молекул воды; для получения нужного препарата его рассыпают тонким слоем на чашки Петри и ставят в защищенное от пыли место при комнатной температуре. Препарат постепенно теряет воду; его нужно помешивать и разбивать комки. Каждые несколько дней взвешивают (с точностью до 0,01 г), пока два взвешивания не дадут одинакового результата. Смешивание растворов проводят, согласно табл. 21.

Таблица 21

pH при 20°	1/15 мол. Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> в см <sup>3</sup>	1/15 мол. KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> в см <sup>3</sup>	pH при 20°	1/15 мол. Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> в см <sup>3</sup>	1/15 мол. KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> в см <sup>3</sup>
5,8	8,0	92,0	7,20	72,0	28,0
5,9	9,9	90,1	7,25	74,4	25,6
6,0	12,2	87,8	7,30	76,8	23,2
6,1	15,3	84,7	7,35	78,9	21,1
6,2	18,6	81,4	7,40	80,8	19,2
6,3	22,4	77,6	7,45	82,5	17,5
6,4	26,7	73,3	7,50	84,1	15,9
6,5	31,8	68,2	7,55	85,7	14,3
6,6	37,5	62,5	7,60	87,0	13,0
6,7	43,5	56,5	7,65	88,2	11,8
6,8	49,6	50,4	7,70	89,4	10,6
6,85	52,5	47,5	7,75	90,5	9,5
6,90	55,4	44,6	7,80	91,5	8,5
6,95	58,2	41,8	7,90	93,2	6,8
7,00	61,1	38,9	8,0	94,7	5,3
7,05	63,9	36,1	8,1	95,8	4,2
7,10	65,6	33,4	8,2	97,0	3,0
7,15	69,2	30,8			



2) Ацетатные буферные смеси. Исходные растворы: п/5 раствор уксуснокислого натрия: 27,22 г  $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  растворяют в воде и доводят в мерной колбе до 1 л; 2) п/5 раствор уксусной кислоты: около 11,3 см<sup>3</sup> 99% ледяной уксусной кислоты доводят в мерной колбе до 1 л. Титр того и другого раствора проверяют по п/10 раствору едкого натра в присутствии фенолфталеина в качестве индикатора (табл. 22).

Таблица 22

pH	Уксуснокислый натрий в см <sup>3</sup>	Уксусная кислота в см <sup>3</sup>	pH	Уксуснокислый натрий в см <sup>3</sup>	Уксусная кислота в см <sup>3</sup>
3,6	7,5	92,5	4,8	59,0	41,0
3,8	12,0	88,0	5,0	70,0	30,0
4,0	18,0	82,0	5,2	79,0	21,0
4,2	25,5	73,5	5,4	86,0	14,0
4,4	37,0	63,0	5,6	91,0	9,0
4,6	48,0	52,0	5,8	94,0	6,0

3) Кислая буферная смесь pH 1,4—2,0. Для приготовления кислых буферных смесей пользуются следующими растворами: 1) п/5 KCl (KCl перекристаллизовывают, хорошо высушивают при температуре 120°) растворяют из расчета 14,9106 г на 1 л воды; 2) п/5 HCl: из концентрированной HCl готовят 20%, титр ее проверяют по соде, употребляя в качестве индикатора метилоранж (табл. 23).

Таблица 23

pH	п/5 KCl в см <sup>3</sup>	п/5 HCl в см <sup>3</sup>	H <sub>2</sub> O в см <sup>3</sup>
1,4	25	20,75	54,25
1,6	25	13,15	61,85
1,8	25	8,30	66,70
2,0	25	5,30	69,70

4) Барбитуровые буферные смеси. Реактивы: 1) основной буферный раствор: барбитуровокислый натрий (мединал) 14,714 г и уксуснокислый натрий 9,714 г разводят в 500 см<sup>3</sup> колбе водой; 2) NaCl 8,5%; 3) п/10 HCl. Смесь готовят по следующей прописи: заготавливают в штативе 13 пробирок, в каждую из них наливают по 5 см<sup>3</sup> основного раствора (1) и по 2 см<sup>3</sup> раствора NaCl (2); перемешивают; в каждую пробирку добавляют раствор HCl (3), исходя из данных табл. 24.

Таблица 24

№ пробирки	п/10 HCl в см <sup>3</sup>	pH	№ пробирки	п/10 HCl в см <sup>3</sup>	pH
1	0,25	9,16	8	5	7,42
2	0,5	8,9	9	5,5	7,25
3	0,75	8,68	10	6,0	6,99
4	1,0	8,55	11	6,5	6,75
5	2,0	8,18	12	7,0	6,12
6	3,0	7,9	13	8,0	5,32
7	4,0	7,66			



## ПРИГОТОВЛЕНИЕ ИНДИКАТОРОВ

1) **Бромтимолблау.** Отвешивают точно 100 мг индикатора и растворяют в агатовой ступке с 3,2 см<sup>3</sup> п/20 раствора едкого натра. По растворении смывают водой в мерную колбу емкостью в 250 см<sup>3</sup> и доводят водой до метки.

2) **Фенолфталеин** — 0,1% спиртовой раствор.

3) **Метилоранж** — 0,1% водный раствор.

4) **Конгорот.** Отвешивают 0,5 г индикатора, прибавляют 90 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и 10 см<sup>3</sup> 95° спирта. Индикаторами 3 и 4 можно пропитать фильтровальную бумажку и пользоваться ею.

5) **Метилрот.** Для изготовления водного раствора растворяют 0,02 г метилрота в 100 см<sup>3</sup> горячей дистиллированной воды и по охлаждению фильтруют. При титровании берут 2—3 капли этого индикатора. Для приготовления водно-спиртового раствора берут 0,05 г метилрота, растворяют в 150 см<sup>3</sup> 90% алкоголя и прибавляют 100 см<sup>3</sup> воды.

6) **Приготовление индикаторных смесей.** Вместо метилрота можно пользоваться следующей смесью индикаторов: к 80 см<sup>3</sup> насыщенного спиртового раствора метилрота прибавляют 20 см<sup>3</sup> 1% спиртового раствора метиленовой синьки. Изменение цвета из зеленого в щелочной среде в виннокрасный в кислой среде совершается очень резко. Можно еще готовить и другую смесь: 0,1% спиртовой раствор метилрота и 0,1% спиртовой раствор метиленовой синьки. Оба препарата должны быть высокого качества. К 100 см<sup>3</sup> первого раствора прибавляют 25 см<sup>3</sup> второго, смесь хранят во флаконе из темного стекла. Для работы берут 1 объем смеси, 1 объем спирта и 2 объема воды и прибавляют по каплям раствор едкого натра (желательно, не содержащий углекислоты) до момента исчезновения красного оттенка. Приготовленный таким способом индикатор отличается наибольшей чувствительностью.

7) **Приготовление раствора крахмала.** Обычно при нодометрии индикатором служит 1% раствор растворимого крахмала. Отвешивают 1 г растворимого крахмала, разбалтывают его в нескольких кубических сантиметрах дистиллированной воды до равномерной кашицы и нагревают до полного просветления. В мерную колбу емкостью 100 см<sup>3</sup> заранее наливают 60—70 см<sup>3</sup> дистиллированной воды; прозрачный раствор выливают в эту воду и доводят дистиллированной водой до метки.

Можно пользоваться также простым картофельным крахмалом: 1 г крахмала замешивают в холодной дистиллированной воде до равномерной кашицы, выливают в 200 см<sup>3</sup> кипящей воды и кипятят еще несколько минут. Оставляют стоять, пока осядет нерастворимый крахмал и над ним образуется прозрачная жидкость, служащая индикатором.

Все водные растворы крахмала нестойки: уже через несколько дней в них появляется плесень. Их можно сохранить на долгое время, прибавляя салициловую кислоту из расчета 1 г на 1 л воды. Если условия реакции позволяют, пользуются раствором крахмала, приготовленным не на воде, а на насыщенном растворе хлористого натрия (см. «Определение сахара», стр. 159); такой раствор крахмала значительно более стоек.

## НЕСКОЛЬКО ЗАМЕЧАНИЙ К ПОЛЬЗОВАНИЮ ВЕСАМИ

1) **Пользование аналитическими весами.** Хорошие аналитические весы выдерживают нагрузку до 100 или 200 г с точностью до 0,1 мг. Весы должны быть укреплены на железных подставках на капитальной



стене, не подвергающейся сильным сотрясениям (лучше не на наружной стене), в комнате, где нет резких колебаний температуры, большого количества паров, кислот и щелочей. Положение весов должно быть строго вертикальным, оно вывернется по уровню. Вне работы весы должны быть закрыты стеклянным футляром со всех сторон; во время работы открывают только боковые стенки, но не переднюю; аретир должен быть закрыт, рейтер снят. Испытывают точность коромысла, помещая на обе чашки одинаковый груз (50 г): маятник должен стоять точно на нуле; при перемещении груза с одной чашки на другую маятник не должен смещаться.

Для взвешивания пользуются специально проверенным разновесом; его хранят без доступа влаги и пыли; касаются его только пинцетом. При взвешивании разновесы кладут на правую, материал — на левую чашку.

На маятнике аналитических весов имеется маленький груз, который может быть передвинут вверх и вниз и регулирует чувствительность весов. Для определения чувствительности весов отсчитывают количество делений на шкале маятника, соответствующее разности между колебаниями вправо и влево, если рейтер передвинут на 1 мг. Нагружают обе чашки одинаковым грузом, например, 10 г, и помещают рейтер так, чтобы маятник стоял точно на нуле. Перемещают рейтер на 1 мг вправо, пускают маятник и отмечают колебания маятника вправо и влево. Например: влево 6,2, вправо 1,1, влево 6,0; смещение влево соответствует среднему между двумя колебаниями:  $\frac{6,2 + 6,0}{2} = 6,1$ , откуда вычитают колебание вправо — 1,1; таким образом, смещение влево соответствует 5 делениям; эта разность характеризуется чувствительностью весов.

Материал, который подлежит взвешиванию, должен иметь комнатную температуру: холодные или теплые объекты вызывают в весах движение воздуха, препятствующее правильному взвешиванию. Охлаждение стаканчиков для взвешивания (бюкс), тиглей и т. п., если материал гигроскопичен, производится в эксикаторе. Для металлических тиглей обычно достаточно охлаждения в течение 10—15 минут, для стеклянной и фарфоровой посуды оно продолжается 20—25 минут.

Вес всех находящихся в употреблении бюкс должен быть записан; тем не менее перед взвешиванием необходима проверка (нельзя взвешивать на бумажках, так как реактив может коснуться чашки, которая от этого испортится).

**2) Пользование торсионными (крутильными) весами** (рис. 57). Для взвешивания малых количеств крови, определения сузого остатка различных тканей и экскретов и т. д. пользуются так называемыми крутильными весами, устроенными по принципу завода пружины. Они дают сравнительно большую точность (0,5—1 мг). На диске весов имеются деления от 0 до 500 мг с интервалом в 1 мг. Стрелка-указатель передвигается по циферблату рукояткой. В нижнем отделе коробки имеется рычаг — аретир, благодаря которому весы приводятся в состояние готовности для взвешивания свободным движением рычага вправо по направлению к стойке штатива. На боковой поверхности имеется специальный крючок, закрывающийся чехлом, куда помещают подлежащий взвешиванию материал. До начала взвешивания весы необходимо установить в строго горизонтальной плоскости с помощью имеющегося в ножке штатива ватерпаса. Взвешивание обычно производят на фильтровальной бумажке, на которой делают небольшое стверствие для надевания ее на крючок. Фильтровальная бумажка должна быть предварительно взвешена



и высушена до постоянного веса; на нее помещают взвешиваемый материал, быстро надевают ее на крючок и приводят в свободное состояние стрелки. Против крючка с грузом имеется метка «0» и небольшая стрелка-указатель, которая опускается при помещении груза на крючок; затем движением рукоятки стрелка переводится по циферблату до тех пор, пока маленькая стрелка-указатель не подойдет к нулю. Место, где стрелка-указатель остановилась на циферблате, указывает вес бумажки с материалом в миллиграммах; вычитая вес бумажки, получают вес вещества. Всегда следует делать несколько навесок и брать средний вес.

## КОЛОРИМЕТРИЯ

Колориметром называется прибор, в котором можно сравнивать между собой окраску двух различных растворов. В тех случаях, когда интенсивность окрашивания изменяется параллельно концентрации того вещества, количество которого желательнее определить, колориметром можно пользоваться для количественных определений.

Простейшие аппараты для колориметрии следующие:

1) **Компаратор.** Изготавливают серию растворов определенной концентрации, различной для каждого раствора и дающей различную степень окрашивания; растворы обычно помещают в пробирки. С этой серией стандартных пробирок сравнивают обработанную соответствующим образом испытуемую жидкость. Стандартную пробирку и пробу обычно сравнивают в штативе, носящем название компаратора.

Такой компаратор в данном руководстве описан в главе об определении реакции мочи (рис. 111, стр. 308).

2) **Колориметр Дюбоска.** Наиболее распространенный из колориметров, дающий удовлетворительно точные результаты, — колориметр типа Дюбоска — устроен таким образом, что свет проходит сквозь стандартный и испытуемый растворы, имеющие слои определенной толщины (рис. 58). Толщину слоя можно менять до тех пор, пока интенсивность окраски обеих жидкостей не будет одинакова. Свет должен исходить из источника равномерной интенсивности; пользуются дневным светом или же искусственным светом из специальных ламп. Луч света отражается от рефлектора и проходит сквозь призмы; таким образом, через подлежащие сравнению жидкости проходят параллельные лучи. Глаз исследователя видит сквозь лупу, фокус которой необходимо точно установить на вполне четкую видимость, освещенный круг, подразделенный на два полукруга. Призмы расположены таким образом, что луч,

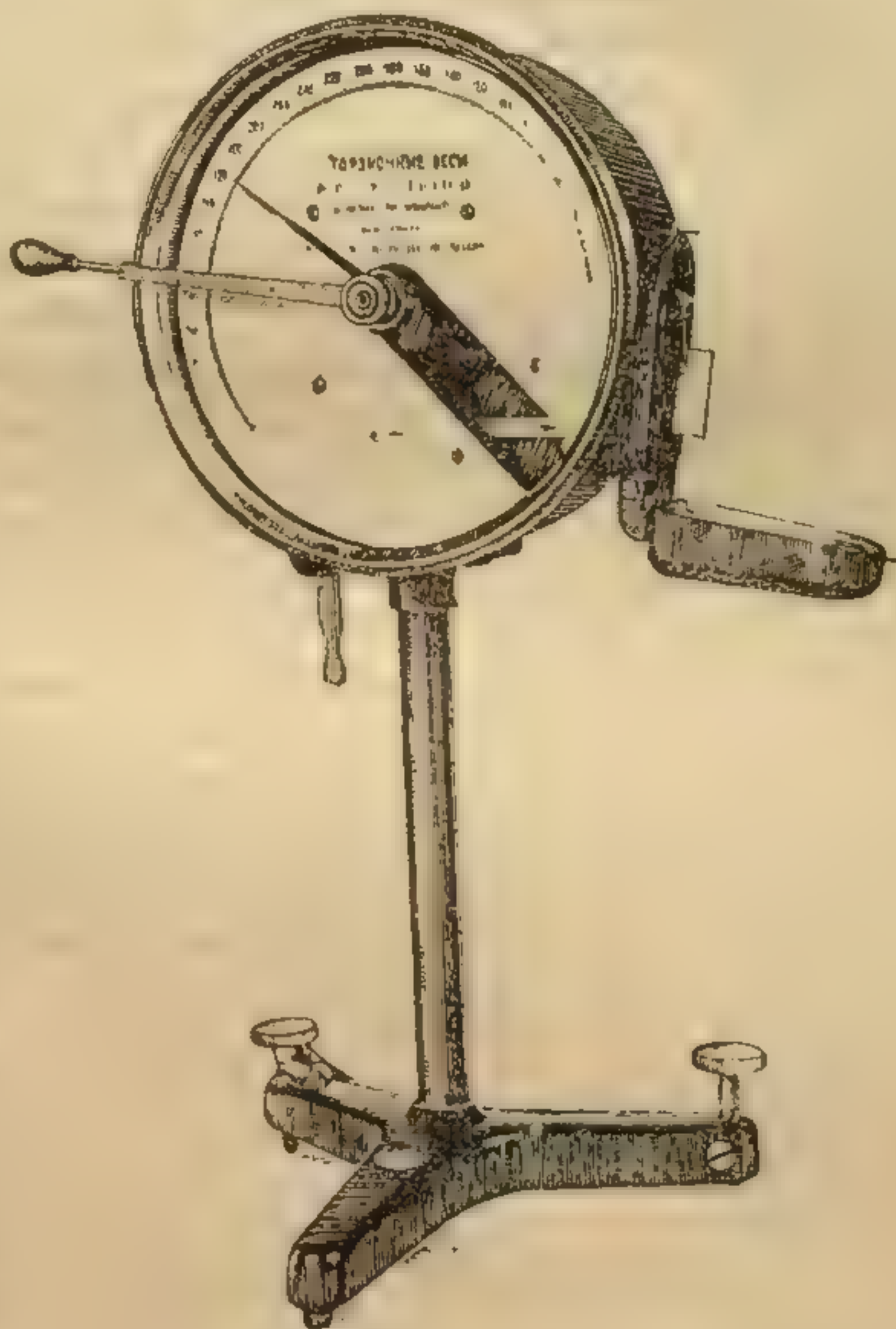


Рис. 57. Торзионные весы.



проходящий сквозь жидкость, помещенную справа, освещает левую половину этого круга, и обратно. Оба полукруга перед началом работы должны быть освещены совершенно одинаково; неравномерное освещение зависит либо от непригодности источника света, либо от недостатка в оптическом аппарате. Наиболее частым недостатком являются повреждения зеркала колориметра каплями исследуемых жидкостей, в особенности щелочных.

Подлежащие сравнению жидкости наливают в толстостенные цилиндрические сосуды из бесцветного стекла (А). В каждый из этих сосудов погружается стеклянный цилиндр (В), через который луч света, прошедший

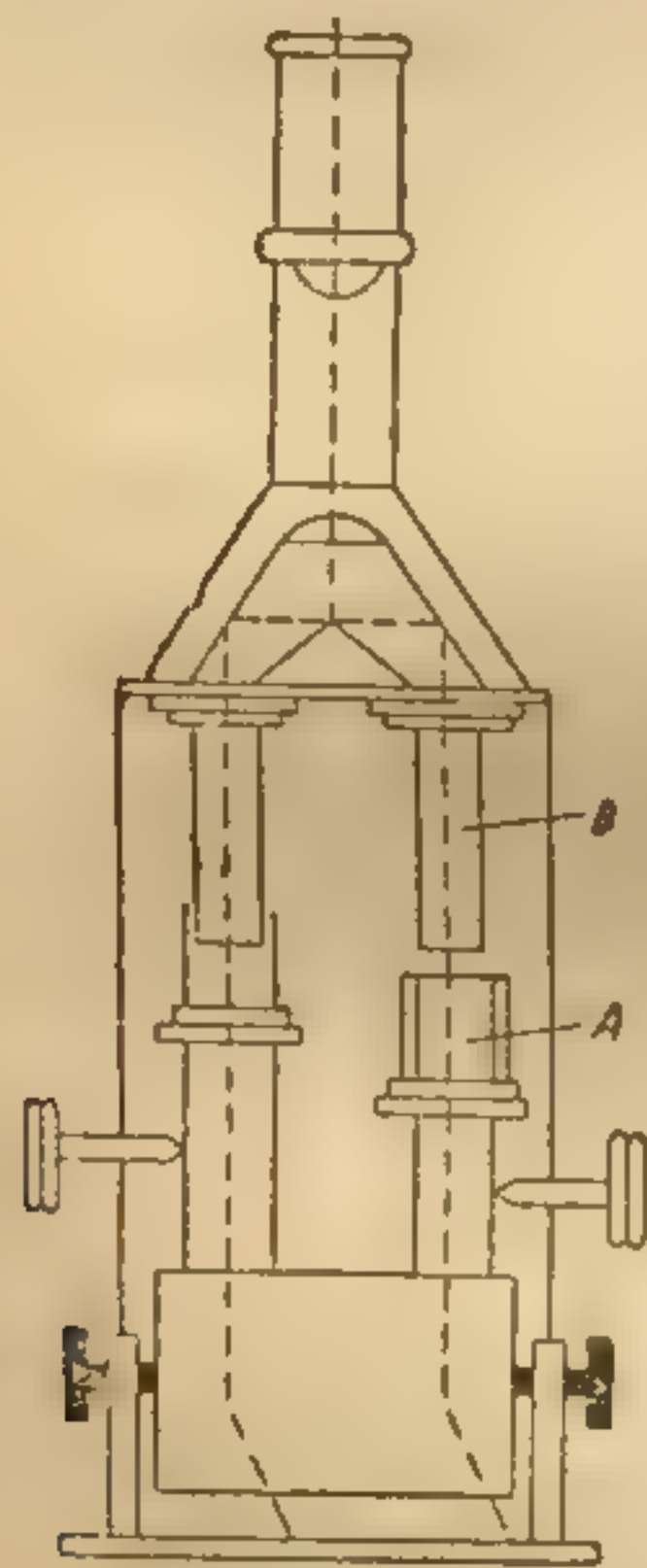


Рис. 53. Схема колориметра Дюбоска.

через слой окрашенной жидкости между дном сосуда и нижней поверхностью цилиндра, проходит дальше. Сосуды стоят в металлических гнездах, соединенных с винтами, изменяющими их положение в вертикальном направлении; гнезда движутся по миллиметровой шкале с нониусом, позволяющим определять величину расстояния между дном сосуда и нижней поверхностью погруженного в него цилиндра с точностью до 0,1 мм.

Каждый колориметр должен быть проверен. Прежде всего выверяют нулевую точку: пустые сосуды перемещают посредством винта кверху, пока дно не придет в соприкосновение с цилиндром. При этом положение того и другого сосуда на шкале должно соответствовать нулю; в противном случае при каждом исследовании необходимо вносить поправку. Далее, испытывают одинаковую передачу освещения с обеих сторон. С этой целью в оба сосуда наливают один и тот же раствор, обычно стандартный; один из сосудов поднимают на какую-либо определенную высоту и устанавливают второй сосуд так, чтобы интенсивность окраски обеих половин круга была совершенно одинаковой; установку повторяют 3—4 раза, каждый раз записывая в

миллиметрах высоту стояния сосуда. Высота стояния обоих сосудов с поправкой (если таковая имеется) на нулевую точку должна быть одинаковой.

Цилиндр при всех перемещениях сосуда должен оставаться погруженным в жидкость. Сосуды следует наполнять с таким расчетом, чтобы при перемещении сосуда вверх погружение цилиндра не вызывало переливания жидкости через край, а при перемещении вниз цилиндр не оказывался вне жидкости.

Обычно сосуд со стандартным раствором устанавливают на определенной высоте, чаще 10 или 20 мм, если соответствующая интенсивность окраски благоприятствует точному колориметрированию, и перемещают только сосуд с испытуемой жидкостью. Колориметрируют при двух положениях стандарта, например, при 10 и при 20; каждый раз производят подряд несколько установок и вычисляют среднюю высоту стояния второго сосуда.

Колориметрирование достаточно точно только в том случае, если жидкости по интенсивности окраски не слишком сильно разнятся между собой. Отношение высоты стояния стандартной жидкости к высоте стояния испытуемой жидкости  $\frac{B_{ст}}{B_x}$  не должно выходить за пределы 0,7 и 1,5. Если разница больше, то нужно либо приготовить стандарт другой



Таблица 25

Вычисление фактора  $V_{ст}:V_x$  для колориметра Дюбоска при  $V_{ст}=15$  и 20

$V_{ст}$	$V_x$	00	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
15	6	2,500	2,461	2,421	2,382	2,345	2,308	2,273	2,237	2,205	2,174
20	6	3,333	3,279	3,226	3,175	3,125	3,077	3,030	2,985	2,941	2,899
15	7	2,143	2,112	2,083	2,054	2,027	2,000	1,973	1,948	1,923	1,885
20	7	2,857	2,817	2,778	2,740	2,703	2,667	2,632	2,597	2,564	2,532
15	8	1,875	1,851	1,829	1,807	1,785	1,764	1,744	1,724	1,704	1,685
20	8	2,500	2,469	2,439	2,410	2,381	2,353	2,326	2,300	2,273	2,247
15	9	1,666	1,648	1,630	1,612	1,596	1,578	1,562	1,546	1,530	1,515
20	9	2,222	2,193	2,174	2,150	2,128	2,105	2,083	2,062	2,041	2,020
15	10	1,500	1,485	1,471	1,457	1,442	1,428	1,414	1,401	1,388	1,376
20	10	2,000	1,931	1,961	1,942	1,923	1,905	1,887	1,869	1,852	1,835
15	11	1,363	1,351	1,339	1,327	1,315	1,303	1,292	1,281	1,270	1,260
20	11	1,818	1,802	1,786	1,770	1,754	1,739	1,724	1,709	1,695	1,680
15	12	1,250	1,240	1,230	1,220	1,210	1,200	1,190	1,181	1,171	1,162
20	12	1,637	1,653	1,639	1,626	1,613	1,600	1,587	1,575	1,562	1,550
15	13	1,154	1,145	1,136	1,127	1,119	1,111	1,103	1,095	1,087	1,079
20	13	1,533	1,527	1,515	1,504	1,492	1,481	1,470	1,460	1,449	1,439
15	14	1,071	1,063	1,056	1,049	1,041	1,034	1,027	1,020	1,013	1,006
20	14	1,423	1,418	1,408	1,399	1,389	1,379	1,370	1,360	1,351	1,342
15	15	1,000	0,993	0,987	0,980	0,974	0,968	0,961	0,955	0,949	0,943
20	15	1,333	1,324	1,316	1,307	1,298	1,290	1,282	1,274	1,266	1,258
15	16	0,933	0,932	0,926	0,920	0,915	0,909	0,904	0,898	0,893	0,888
20	16	1,250	1,242	1,235	1,227	1,219	1,212	1,205	1,197	1,190	1,183
15	17	0,832	0,877	0,872	0,867	0,862	0,857	0,852	0,847	0,843	0,838
20	17	1,176	1,170	1,163	1,150	1,149	1,143	1,136	1,130	1,124	1,117
15	18	0,833	0,829	0,824	0,820	0,815	0,811	0,806	0,802	0,798	0,794
20	18	1,111	1,105	1,099	1,093	1,087	1,081	1,075	1,069	1,064	1,058
15	19	0,790	0,785	0,781	0,777	0,773	0,769	0,765	0,761	0,758	0,754
20	19	1,053	0,047	1,042	1,036	0,031	1,026	0,020	0,015	0,010	1,005
15	20	0,750	0,743	0,743	0,739	0,735	0,732	0,728	0,725	0,721	0,718
20	20	1,000	0,995	0,990	0,985	0,980	0,976	0,971	0,966	0,961	0,957
15	21	0,714	0,711	0,708	0,704	0,701	0,698	0,694	0,691	0,688	0,685
20	21	0,952	0,946	0,943	0,939	0,934	0,930	0,926	0,922	0,917	0,913
15	22	0,632	0,679	0,675	0,673	0,670	0,667	0,664	0,661	0,658	0,655
20	22	0,909	0,905	0,901	0,897	0,893	0,889	0,885	0,881	0,877	0,873
15	23	0,652	0,649	0,647	0,644	0,641	0,638	0,636	0,633	0,630	0,628
20	23	0,869	0,866	0,862	0,858	0,855	0,851	0,847	0,844	0,840	0,837
15	24	0,625	0,622	0,620	0,617	0,615	0,612	0,610	0,607	0,605	0,602
20	24	0,833	0,830	0,826	0,823	0,820	0,816	0,813	0,810	0,806	0,802
15	25	0,600	0,598	0,595	0,593	0,591	0,588	0,586	0,584	0,581	0,579
20	25	0,800	0,797	0,794	0,790	0,787	0,784	0,781	0,778	0,775	0,772
15	26	0,577	0,575	0,573	0,570	0,568	0,566	0,564	0,562	0,560	0,558
20	26	0,769	0,766	0,763	0,760	0,757	0,755	0,752	0,749	0,746	0,743
15	27	0,556	0,554	0,551	0,549	0,547	0,545	0,543	0,542	0,540	0,538
20	27	0,741	0,738	0,735	0,733	0,730	0,727	0,724	0,722	0,719	0,717
15	28	0,536	0,534	0,532	0,530	0,528	0,526	0,524	0,523	0,521	0,519
20	28	0,714	0,712	0,709	0,707	0,704	0,702	0,699	0,697	0,694	0,692
15	29	0,517	0,515	0,514	0,512	0,510	0,508	0,507	0,505	0,503	0,502
20	29	0,690	0,687	0,685	0,683	0,680	0,678	0,676	0,673	0,671	0,669
15	30	0,500	0,498	0,496	0,494	0,492	0,490	0,488	0,487	0,486	0,485
20	30	0,666	0,664	0,662	0,660	0,658	0,656	0,654	0,651	0,649	0,647
15	31	0,484	0,482	0,481	0,479	0,478	0,476	0,475	0,473	0,472	0,470
20	31	0,645	0,643	0,641	0,639	0,637	0,635	0,633	0,631	0,629	0,627
15	32	0,469	0,467	0,466	0,464	0,463	0,461	0,460	0,459	0,457	0,456
20	32	0,625	0,623	0,621	0,619	0,617	0,615	0,613	0,612	0,610	0,608
15	33	0,454	0,453	0,452	0,450	0,449	0,448	0,446	0,445	0,444	0,442
20	33	0,606	0,604	0,602	0,601	0,599	0,597	0,596	0,593	0,592	0,590
15	34	0,441	0,440	0,439	0,437	0,436	0,435	0,434	0,432	0,431	0,430
20	34	0,588	0,586	0,585	0,583	0,581	0,580	0,578	0,576	0,575	0,573



концентрации, либо повторить определение с другим количеством испытуемой жидкости.

Принцип вычисления основан на том, что в определенных пределах интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации испытуемого вещества и обратно пропорциональна толщине слоя, определяемого по шкале колориметра. Поэтому, если обозначить концентрацию стандарта через  $K_{ст}$ , концентрацию исследуемого вещества — через  $K_x$ , высоту стояния стандартной жидкости — через  $B_{ст}$ , а испытуемой жидкости — через  $B_x$ , то  $K_{ст}:K_x = B_x:B_{ст}$ , откуда:

$$K_x = \frac{K_{ст} \times B_{ст}}{B_x}.$$

Таким образом определяется концентрация исследуемого вещества во взятом для исследования количестве материала при данном конечном объеме жидкости по сравнению со стандартом, изготовленным из взятого

в определенном количестве вещества и тоже доведенного до определенного конечного объема. Так, например, при определении мочевой кислоты пользуются стандартным раствором, содержащим 1 см<sup>3</sup> 0,1% раствора мочевой кислоты в 250 см<sup>3</sup> воды, и этого раствора берут 5 см<sup>3</sup>, в которых находятся 0,02 мг мочевой кислоты (см. стр. 211). Желательно для простоты вычисления, чтобы конечные объемы обеих жидкостей были одинаковы; если этого нет, то разницу объемов необходимо учесть при вычислении. Естественно, что при одинаковой окраске концентрация будет выше в той жидкости, которая была сильнее разведена, притом во столько раз, во сколько сильнее разведение. Если исследуемая жидкость была разведена вдвое больше, чем стандартная, то:

$$K_x = \frac{K_{ст} \times B_{ст}}{B_x} \times 2.$$

Результат обычно выражают в грамм- или миллиграмм-процентах, принимая во внимание количество взятого материала. Например, если для обработки было взято 0,2 см<sup>3</sup> крови, то полученный результат должен быть умножен на 500.

Вычисление облегчается при пользовании табл. 25.

3) **Колориметр Аутенрита.** Сравнивают между собой окраску испытуемой жидкости и стандартного раствора, причем последний налит в клинообразный сосуд; интенсивность окраски стандарта постепенно ослабевает по мере уменьшения толщины клина (рис. 59).

Колориметром такого типа, но с пустым клином, наполняемым любым стандартным раствором, является широко распространенный в диагностических лабораториях колориметр Аутенрита. В этом колориметре можно производить самые разнообразные исследования. Клин (кл) передвигается вдоль шкалы (Ш), подразделенной на 100 делений с нулевой точкой вверху; в аппаратах старого образца нулевая точка помещалась, наоборот, внизу, а цифра 100 — вверху. Стаканчик (кювета) для исследуемой жидкости имеет толщину и форму верхнего конца клина. Он укреплен с боку его на одной с ним плоскости и не передвигается. Весь прибор построен

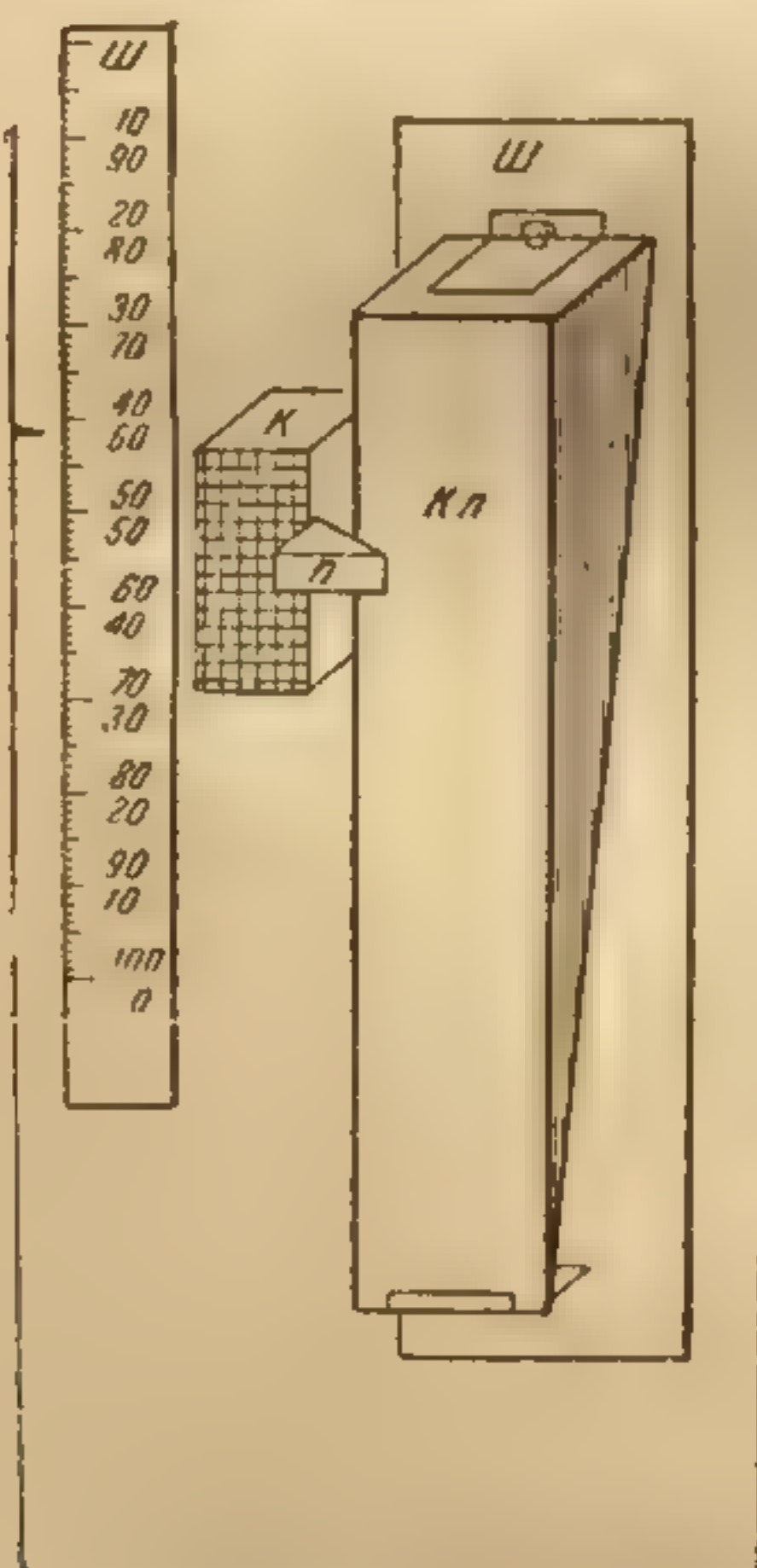


рис. 59. Схема колориметра Аутенрита.



в виде ящичка, на задней стенке которого имеется зажим для помещения клина, а на левой боковой стенке — салазки для стаканчика с исследуемой жидкостью. Боковая поверхность клина должна соприкасаться с обращенной к нему поверхностью стаканчика. Верхняя четверть задней стенки ящичка состоит из молочного стекла; ее обращают к источнику света, лучше всего на хорошо освещенное окно. Лучи света попадают на двойную призму, помещенную таким образом, что поля зрения, соответствующие клину и стаканчику, лежат рядом и окраску их легко сравнить. На передней стенке против призмы имеется отверстие для глаза или специальная трубка — окуляр; лучи света, проходя через клин и призму или стаканчик и призму, попадают в глаз наблюдателя. Когда после соответствующей обработки исследуемая жидкость налита в стаканчик, а стандартный раствор — в клин, то клин посредством винта перемещают по вертикальной линии, пока не будет достигнута одинаковая интенсивность окраски: делают несколько установок и берут среднюю величину. Если клин максимально спущен и стоит на цифре 100 (0), то толстый конец клина и верхняя часть стаканчика стоят на одной высоте, и так как толщина их одинакова, то лучи проходят через слои равной толщины, и если испытуемая жидкость и стандарт одинаково окрашены, то и обе половины освещенного прямоугольника будут окрашены одинаково интенсивно. Если одинаковая интенсивность достигнута при положении клина соответственно цифре 50, то окраска испытуемой жидкости в два раза слабее, чем окраска стандарта. Таким образом, цифра на шкале, соответствующая положению клина, указывает непосредственно, скольким процентам окраски клина соответствует окраска испытуемой жидкости. Но так как при колориметрии концентрации параллельны интенсивности окраски, то эта цифра указывает в то же время, какой процент концентрации стандарта содержится в испытуемой жидкости.

Для некоторых исследований имеются готовые стандартные растворы, налитые в клин и запаянные. К такому клину обычно приложена кривая, указывающая концентрацию испытуемой жидкости при каждом данном положении клина. Эту кривую необходимо проверить самому, пользуясь чистыми растворами искоемых веществ (билирубина, холестерина и т. п.) и обрабатывая их своими реактивами. Изготавливают растворы различной концентрации, подвергают каждый из них соответствующей обработке и сравнивают в колориметре с клином (см. ниже — «Калибровка клина»). Из полученных таким образом величин составляется кривая, которой затем можно пользоваться иногда долгое время, пока клин не изменил своей окраски или не произошло резкой перемены качества реактивов. Это значительно облегчает и ускоряет работу. Более точные результаты, однако, получаются, если стандартный раствор изготавливают тут же из определяемого вещества, одновременно обрабатывают одними и теми же реактивами и его, и исследуемую жидкость и наливают раствор в пустой клин.

При работе с одновременно изготавливаемыми стандартными растворами клин должен быть безукоризненно чистым. Тотчас по окончании работы из него выливают жидкость, ополаскивают его водой, спиртом и эфиром. Так как отверстие его очень узко, то жидкость в него наливают посредством пипетки с тонким концом (пастеровская пипетка). Перед наполнением клина стандартной жидкостью его ополаскивают той же жидкостью. Кювета (стаканчик) тоже должна быть совершенно чистой и сухой; если исследуемая жидкость имеется в избытке, то стаканчик предварительно ополаскивают этой жидкостью. При серийных исследованиях, когда стакан-



чик между двумя определениями не высушивают, это необходимо. Доступные поверхности призм надо протирать.

4) Калибровка клина. В клин вводят стандартный раствор или какую-нибудь краску или цветную жидкость, оттенки которых совпадают с оттенком цветной реакции раствора, образующегося в процессе реакции исследуемого вещества. Если раствор стоек, то клин можно наглухо закрыть. Затем готовят раствор исследуемого вещества определенной концентрации и, отбирая из него различные количества, проводят с ним цветную реакцию в условиях, аналогичных условиям опыта. Образующийся окрашенный раствор наливают в кювету. Поднимая и опуская клин, находят для него такое положение, когда интенсивность окраски растворов в кювете и клине кажется одинаковой; по шкале, укрепленной рядом с клином, делают отсчет (отсчеты делают 3—5 раз, для чего снова смещают клин и находят для него положение равенства окрасок). Полу-

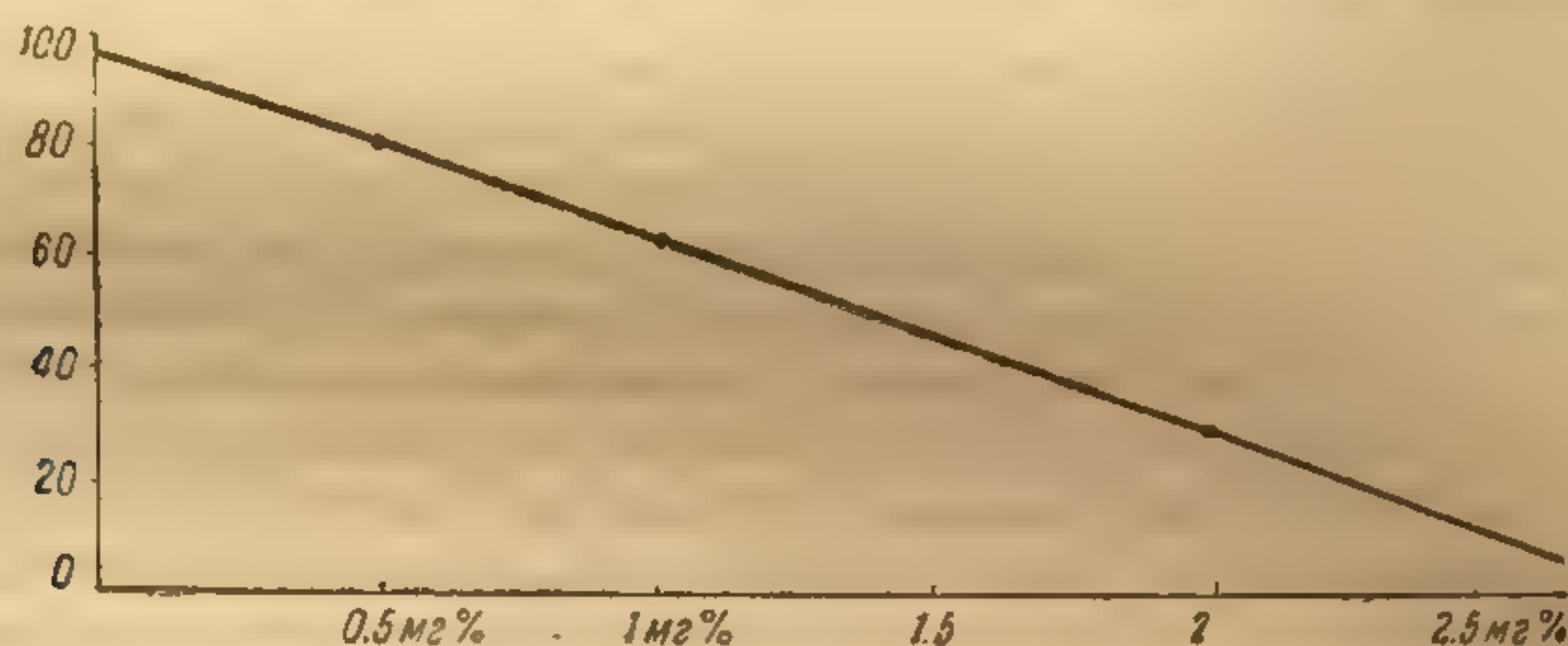


Рис. 60. Кривая для колориметра Аутенрита.

ченные цифры показывают положение клина, соответствующее интенсивности окраски растворов с определенной концентрацией исследуемого вещества. Результаты изображают в виде кривой, отмечая по оси абсцисс количество исследуемого вещества, а по оси ординат — положение клина в делениях шкалы.

Так, например, найдено, что при содержании исследуемого вещества клин занимал следующие положения: при концентрации исследуемого вещества в 0,5 мг% — 80-е деление, 1 мг% — 60-е деление, 2 мг% — 40-е деление и т. д. Тогда кривая будет иметь следующий вид (рис. 60). При всех вычислениях необходимо принимать во внимание степень разведения крови в процессе производства реакции.

## ФОТОМЕТРИЯ

1) Принцип устройства фотометра. В основу этого типа приборов (ступенчатый фотометр) положен следующий принцип: определяется степень интенсивности света, проходящего через окрашенный или мутный раствор испытуемой жидкости сравнительно с контролем (растворитель). Возможность сравнения интенсивности света достигается тем, что лучи, прошедшие как через окрашенное испытуемое вещество, так и через бесцветный контроль, проходят к глазу через окрашенный стеклянный фильтр лучше всего дополнительного цвета окраски испытуемого вещества. Уравнивание интенсивности света (степени поглощения, «тушения» — экстинкции света, прошедшего через испытуемый раствор) производится закрытием диафрагмы, на винте которой нанесены деления на



стороне, соответствующей контролю. Степень экстинкции в некоторых пределах пропорциональна окраске, т. е. концентрации вещества.

Фотометр состоит из осветительного прибора и оптической части.

2) **Осветительная часть прибора.** В качестве источника света служит осветитель (рис. 61), который содержит в полукруглом футляре

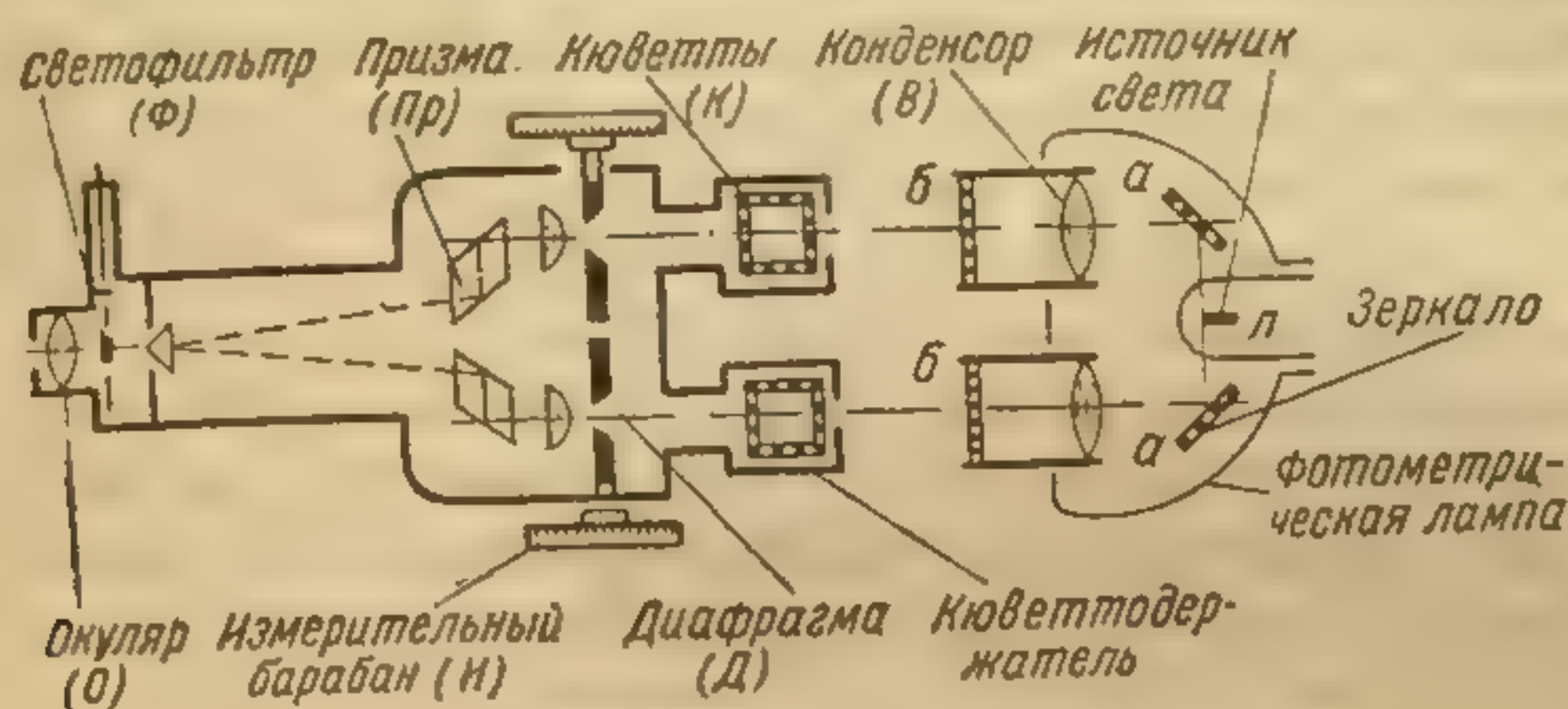


Рис. 61. Схематический разрез фотометра с фотометрической лампой.

специальную низковольтную лампочку, проволока накаливания которой свернута в виде спирали с прямой осью (Л). Нормальное напряжение для лампы равно 8 V. Свет, выходящий сбоку от спирали, падает на 2 зеркала (а) помещенных в лампе под углом  $45^\circ$  к лучу света, и отражается под углом  $90^\circ$ . На фронтальной поверхности осветителя имеются 2 отверстия, в которых помещены 2 трубки со световыми конденсорами (В). Расстояние между осями конденсора — 7 см. Трубки вставляются таким образом, что спираль лампы помещается в фокусе конденсора. Таким образом, лампа дает два приблизительно параллельных пучка света, находящихся на расстоянии примерно 7 см. Каждая трубка при выходе имеет по две вкладки-щели (б), в которые вставляются матовые стекла и по мере необходимости обычное стекло (для выравнивания интенсивности света).

Включение лампы в сеть производится при переменном токе через трансформатор, который в соответствии с надобностью включается на 220 или 110 V. Вилка кабеля вставляется в штепсель осветительной сети, а противоположная вилка на контактной пластине включается в сопротивление (при постоянном токе; в случае же переменного тока включается трансформатор). Так как трансформатор сравнительно сильно нагревается, обращают внимание на то, чтобы он употреблялся только подвешенным, так чтобы согревшийся воздух мог свободно циркулировать.

**Установка лампы.** Для установки лампы накаливания ее помещают на расстоянии примерно 1 м перед стеной или на этом расстоянии укрепляют лист белой бумаги. Если для установки аппарата служит горизонтальный штатив, то целесообразно оптическую часть фотометра снять, чтобы она не мешала излучению света лампой. Лампу следует ввинтить в цоколь и поместить в футляр в таком направлении, чтобы спираль оказалась в вертикальном положении и при включении ее в сеть изображение спиралей проецировалось через обе линзы конденсора на изображении на стене или бумаге, расположенной на расстоянии 1 м от лампы. Изобра-

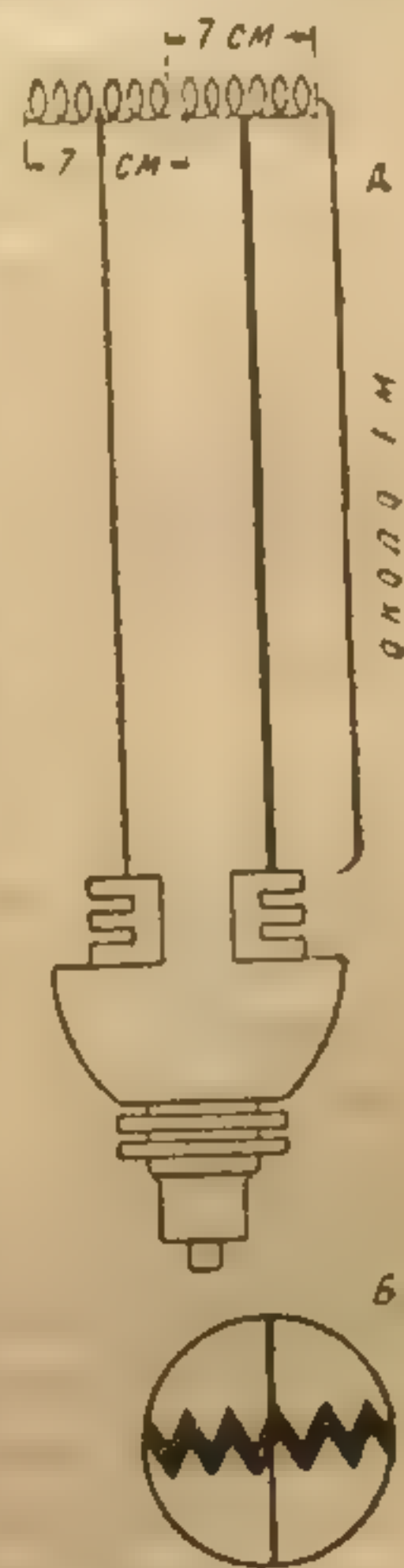


Рис. 62. Схема проекции лампы.

А — на стене; Б — в окуляре.



жение спиралей должно быть четким. Это достигается путем осторожного продвижения лампы вглубь футляра или обратно. Расстояние между проецируемыми спиралями должно быть 7 см (рис. 62).

В качестве источника монохроматического света можно употреблять специальную ртутную лампу.

3) **Оптическая часть прибора.** Два пучка света, выходящие из лампы, проходят через опытные сосуды (кюветы  $K$ ) и вступают через два отверстия измерительных квадратных диафрагм ( $D$ ) в систему объектива. Диафрагмы открываются и закрываются при помощи барабанов ( $И$ ), на которых нанесены деления. Пучки света, далее, проходят через призмы ( $Пр$ ), перекрещиваются и попадают в глаз наблюдателя через цветной светофильтр ( $\Phi$ ) и окуляр ( $O$ ). Таким образом, наблюдатель видит круглое поле зрения, которое делится ясно выраженной чертой на две половины: правая половина поля зрения освещена тем светом, который проходит через левую диафрагму; левая же половина поля зрения получает свет из правого отверстия. В зависимости от величины раскрытия диафрагмы, в глаз наблюдателя попадает различное количество света. Если диафрагма, на которую падает более слабый пучок света, открыта полностью, то вращением измерительного барабана на противоположной стороне можно добиться того, что через оба отверстия диафрагмы будет проходить одинаковое количество света и наблюдатель увидит обе половины поля зрения одинаково освещенными. Оба измерительных барабана снабжены двумя шкалами. По черной шкале можно отсчитать проводимость света ( $D$ ) раствором в процентах к падающему на раствор свету, принятому за 100%. Красная шкала является шкалой экстинкции (тушения). При колориметрических определениях для измерения величины абсорбции света пользуются экстинкцией ( $E$ ): по закону Бера экстинкция раствора при равной толщине слоя прямо пропорциональна концентрации. Величины обеих шкал связаны уравнением:  $E = 2 - \lg D$ .

В старой модели, имеющей только одну шкалу на барабане, можно непосредственно отсчитать только процент проводимости света ( $D$ ). Экстинкция ( $E$ ) определяется затем по табл. 26 (стр. 154—155).

Оптическая часть фотометра для защиты от повреждений и пыли помещается в чехол. Свет вступает в фотометр через два коротких отрезка трубки, к которым прилегают кюветы: одна с испытуемым веществом, другая с растворителем и реактивами. На наклонных осях измерительных барабанов навинчены гайки, которые при помощи специального ключа могут закрепляться или ослабляться, если измерительный барабан вращается слишком легко или слишком трудно. Ближе к окуляру прикреплен вращающийся диск для установки светофильтров.

Назначение спектральных фильтров заключается в выделении из света лампы монохроматического участка. Прибор снабжен серией светофильтров различной окраски, т. е. пропускающей лучи разной длины волны. Соответственно этому имеются номера (S 43, S 47, S 50, S 53 и т. д.).

Эти обозначения показывают, какой участок света и с какой длиной волны пропускается. Например, S 53 обозначает, что фильтр пропускает лучи в области  $530 \text{ \AA}^1$  (ангстрем) (третья цифра не указывается, так как фильтр пропускает участки света различных длин волн, приблизительно  $10-12 \text{ \AA}$ ).

Светофильтры, пропускающие большое количество лучей, обозначены через L (например,  $L_1$  37,  $L_2$  38 и т. д.). Эти фильтры употребляются для веществ, сильно поглощающих свет, в специальных случаях (цвет мочи) и для нефелометрии.

<sup>1</sup>  $\text{\AA} = \text{m}\mu = \text{миллимикрон} = 10^{-8} \text{ см} = 0,00000001$ .



Для проверки равномерности освещения рядом с окуляром имеется лупа, которая может быть помещена перед окуляром. При правильном освещении через эту лупу видно четкое равномерное квадратное поле; при неправильном положении лампы поля раздваиваются и получается как бы наложение друг на друга двух полей (см. рис. 62).

Для защиты глаза наблюдателя от окружающего света имеются два щитка: один на окуляре, другой свободный — слепой. Этот щиток свободно вращается вокруг оси окуляра, так что легко можно найти положение, при котором глазная впадина наблюдателя хорошо закрыта. Кроме того, окулярный щиток вместе со слепым щитком служит для того, чтобы придать правильное положение голове и глазу наблюдателя относительно отверстия окуляра. Слепой щиток, который при помощи скобы укреплен на шейке фотометра, защищает второй глаз наблюдателя от окружающего света. Возможность вращения щитков вокруг их оси и пересадки слепого щитка с левой на правую сторону позволяет производить измерения по желанию правым или левым глазом.

**Сосуды для исследования.** В качестве сосудов для исследования употребляются кюветы, толщина слоя жидкости в которых составляет от 0,1 до 5 см. На каждый 1 см слоя требуется 3,5 см<sup>3</sup> жидкости. Для того чтобы уменьшить потери путем испарения летучих жидкостей, кюветы покрывают приложенными покровными стеклами. Кювету помещают в кюветодержатель. Растворы нормальной интенсивности, количество которых недостаточно, наливаются в кюветы с малым слоем. Обыкновенно пользуются кюветами, толщина слоя которых равна 1 см. Это удобно при вычислениях, так как толщина слоя принимается в расчет.

Опытные сосуды перед употреблением должны быть тщательно вымыты, причем следует вымыть не только окошечки их, но и боковые стенки. Особое внимание обращают на то, чтобы на окошечках не было остатков жидкости и отпечатков пальцев. Если имеется достаточное количество жидкости, то сосуд перед измерением споласкивают 1—2 раза. После употребления сосуды возможно быстрее моют. Надо помнить, что неравномерное освещение поля зрения может происходить также вследствие недостаточного наполнения опытных сосудов и загрязнения их перелившейся жидкостью.

Особая тщательность нужна при установке микрокювет. В правильном положении каждого сосуда убеждаются следующим образом: измерительную диафрагму на испытуемой стороне с сосудом, наполненным дистиллированной водой, полностью открывают, а другую полностью закрывают; устанавливают сосуды таким образом, чтобы ни одна часть стенок сосудов не выдвигалась из поля зрения. Когда это достигнуто, опускают лупу перед окуляром, и если неправильно виден квадрат (см. выше), исправляют положение сосудов до тех пор, пока квадратное поле зрения не будет полностью равномерно освещено. Затем, наоборот, полностью открывают закрытую измерительную диафрагму, а другую полностью закрывают и производят таким же образом установку второго сосуда.

Аппарат установлен таким образом, что глаз наблюдателя не освещен никаким другим светом, кроме света от лампы прибора. При измерении начальной проводимости света рекомендуется для получения более точных результатов работать в темной комнате. Для удобства отсчета на измерительных барабанах целесообразно иметь поблизости от барабана лампочку, так чтобы ее удобно было зажигать и производить отсчет.

Само измерение состоит в том, что оба одинаково окрашенные, но различно освещенные поля зрения путем медленного вращения одного из измерительных барабанов делаются одинаково освещенными.



Отдельные части прибора могут быть установлены или на штативе, или на оптической скамье (рис. 63). Фотометры, выпускаемые нашей промышленностью, смонтированы вертикально. Приемы работы с ними те же, только имеются кюветы типа цилиндриков (рис. 64).

4) **Ход фотометрирования.** Прежде всего необходимо удостовериться в правильной установке фотометра. Для этого контролируют освещение при помощи лупы (см. выше). Для получения мягкого света вставляют матовые стекла в конденсор. Вставляют предписанный методикой свето-фильтр. Вращают краевую нарезку окуляра (чем исправляют рефракции глаз наблюдателя), пока не получится четкого изображения линии раздела.

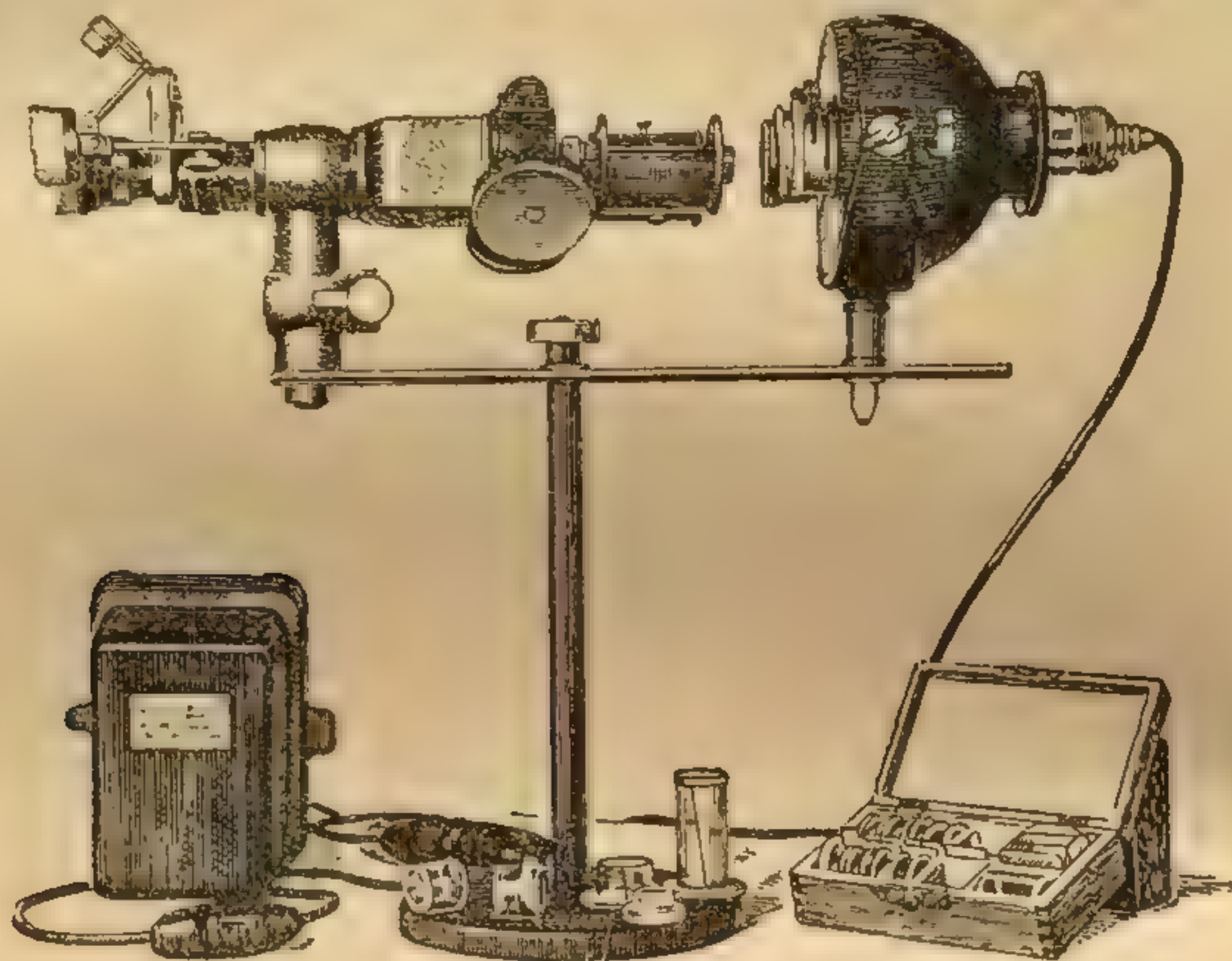


Рис. 63. Фотометр.

Ставят оба барабана на полное открытие диафрагмы (100% на черной шкале, 0 — на красной). Сдвигая трубки конденсора, добиваются одинакового освещения обеих половин поля зрения. При большой разнице в освещении (около 10%) во второй свободный паз трубки конденсора на более освещенной стороне вставляют простое стекло.

Для контроля устанавливают один измерительный барабан на 50 и вращением другого барабана добиваются одинакового освещения обеих половин поля зрения. Если среднее из нескольких отсчетов лежит между 49,5 и 50,5, то можно считать установку правильной.

Наливают испытуемый раствор в чистую кювету, лучше всего имеющую диаметр 1 см. Если вещество окрашено интенсивно, то применяют более тонкие слои жидкости. При слабо окрашенных растворах, наоборот, употребляют кюветы с более толстым слоем. В другую кювету одинакового диаметра наливают растворитель с реактивами реакции (если эта смесь бесцветна, можно пользоваться водой). Помещают обе кюветы в кюветодержатель и фотометрируют, прижав наблюдающий глаз к окуляру, а другой — к слепому щитку. Необходимо видеть четкую линию раздела поля зрения. Медленно вращают барабан на стороне компенсационной жидкости (т. е. закрывают диафрагму) до выравнивания интенсивности освещения. Отмечают цифру черной шкалы барабана. Снова двигают барабан, чтобы получить разное освещение полей зрения, опять выравнивают его и делают отсчет. Из 2—3 отсчетов берут среднее. Для более



точного фотометрирования кюветы меняют местами и делают повторные отсчеты. При правильной установке фотометра цифры должны совпадать.

5) **Вычисление.** Найдя процент пропускаемого веществом света на черной шкале ( $D^0/0$ ), следует перевести эту величину на коэффициент экстинкции. Это делается на новых аппаратах при помощи отсчета соответствующей величины на красной шкале, нанесенной рядом с черной. При работе с моделью без красной шкалы коэффициент экстинкции находится по табл. 26. Отсчет приводится к толщине слоя в 1 см (если слой взят больше — делят, если меньше — умножают).

Дальнейшее вычисление обычно производят по кривой, составленной к каждой методике. Для этого берут серию разных разведений вещества,

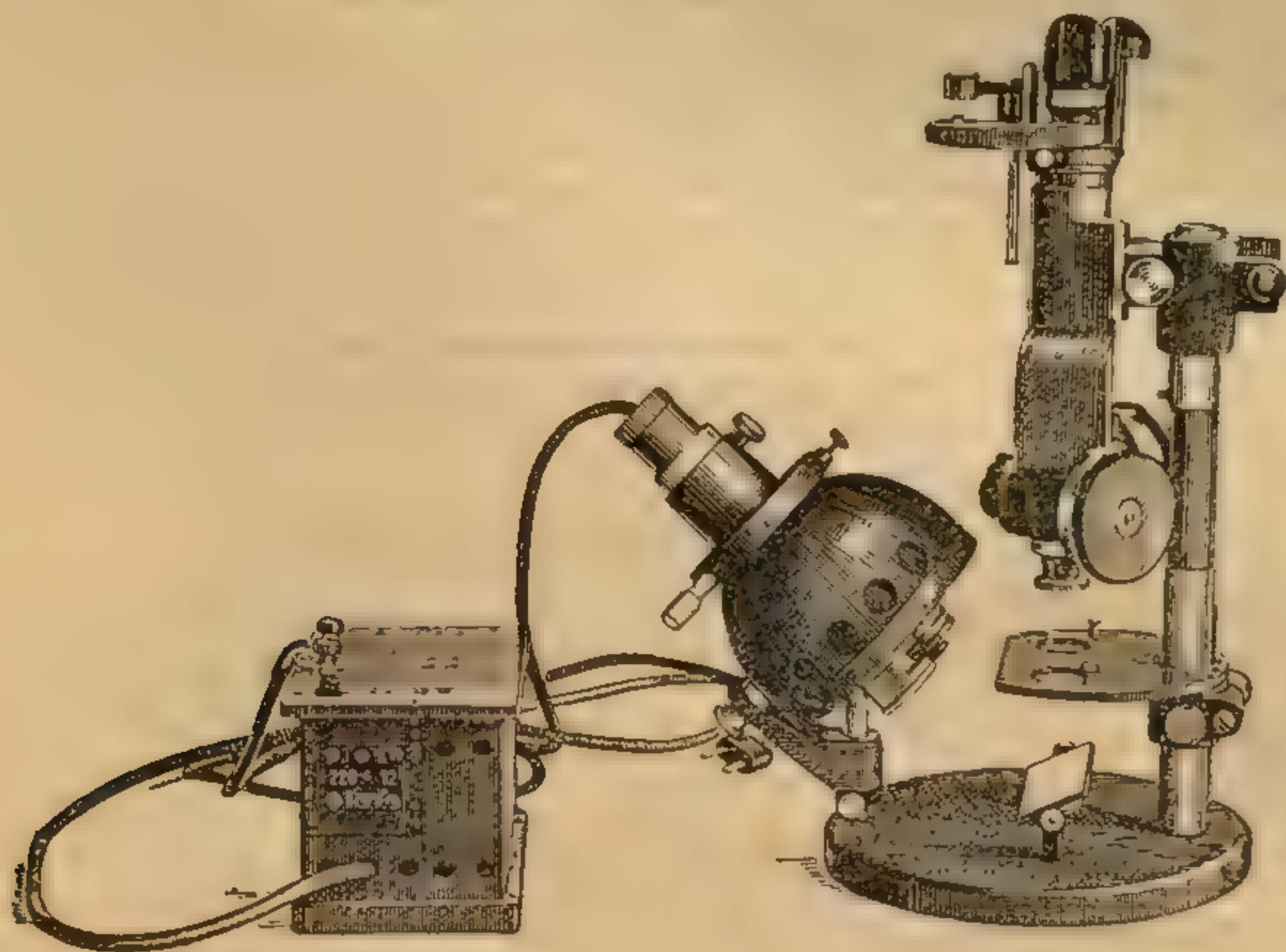


Рис. 64. Фотометр, отечественная модель.

кривую которого хотят составить, добавляют нужные по методической прописи реактивы для получения окраски и все их фотометрируют при слое толщиной 1 см. Находят по красной шкале или по таблице соответствующий коэффициент экстинкции и откладывают по вертикальной ординате (лучше пользоваться миллиметровой бумагой). На абсциссе отмечают количество вещества, соответствующего разведению (в  $mg^0/0$ ), затем проектируют скрещивание линий и на месте их пересечения ставят точку.

После определения экстинкции 3—5 концентраций точки соединяют линией, которая должна быть близка к прямой. В дальнейшем пользуются этой линией, как для обычного колориметрирования (см. калибровку клина, стр. 146).

Если эта зависимость идет по закону Бера, т. е. по прямой, можно вычисление концентрации испытуемого раствора упростить, определив заранее фактор, на который следует умножить найденную экстинкцию, чтобы получить искомую концентрацию. Фактор получается делением взятой концентрации на измеренную при этой концентрации экстинкцию.



Пример. При определении кривой концентрации инулина в крови получены экстинкции для концентрации в 10 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> — 0,620, в 5 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> — 0,310, в 4 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> — 0,248, в 3 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> — 0,186.

Проведя вычисление, получают фактор:

$$\frac{10}{0,620} = 16,12, \text{ или } \frac{4}{0,248} = 16,12.$$

Таким образом, при делении любой концентрации на свою экстинкцию фактор будет равен 16,12. В дальнейшем, определяя концентрацию инулина в крови, можно пользоваться этим фактором, умножая на него полученную экстинкцию, и не прибегать к кривой. Например, найдена экстинкция 0,248; умножая на фактор 16,12, получим 4 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

**Выбор фильтра.** При фотометрировании необходимо правильно выбрать фильтр, для того чтобы были резко заметны изменения в интенсивности пропускаемого света через испытуемый раствор. Если в методике не указан цвет фильтра, следует его найти следующим образом: берут какой-либо стандартный раствор, например, фосфатов, производят с ним цветную реакцию, наливают окрашенный раствор в кювету и начинают фотометрировать последовательно со всеми S фильтрами, вложив их последовательно по отмеченному на фильтре показателю участка спектра по восходящей линии (S 43 и выше). Затем на миллиметровой бумаге по горизонтали отмечают обозначения фильтров, а по вертикали — найденную экстинкцию. Соединяют эти точки и получают волнообразную кривую, специфическую для данного раствора. Отмечают фильтр на участке кривой, имеющей меньшую экстинкцию, и в дальнейшем фотометрируют с этим фильтром.

## ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ СВЕРТЫВАНИЯ

Исследуют цельную кровь, плазму или сыворотку. В двух первых случаях надо предотвратить свертывание. С этой целью в большинстве случаев прибавляют к крови какое-либо вещество, препятствующее свертыванию.

В качестве противосвертывающего пользуются щавелевокислыми (оксалаты), реже лимоннокислыми (цитраты) соединениями, так как последние значительно резче изменяют реакцию крови и взаимоотношение между химическим составом клеток и плазмы. Хорошее противосвертывающее — фтористый натрий; берут 10 мг на 10 см<sup>3</sup> крови. При известном навыке это количество легко определяется на-глаз.

Само собой разумеется, что нельзя пользоваться оксалатами, если предполагается количественное определение кальция, или щавелевокислым калием или натрием, если предполагается количественное определение калия или натрия (или суммы оснований).

Из оксалатов чаще всего пользуются щавелевокислым калием, который растворяется легче других.

Концентрация щавелевокислого калия не должна превышать 0,1—0,2‰; концентрация свыше 0,3‰ уже вызывает в крови разные изменения вплоть до гемолиза. Концентрация 0,1—0,2‰ вызывает сморщивание красных кровяных клеток, в результате чего происходят незначительные перемещения воды и электролитов между клетками и плазмой и уменьшение СО<sub>2</sub>-связывающей способности крови. Для определения сахара или азотистых соединений это не имеет значения, для ряда же других исследований нужно по возможности уменьшить эти изменения.

За неимением чистого препарата оксалата его следует перекристаллизовать в горячей воде и промыть холодной водой. Из перекристаллизованной соли готовят 30% раствор, прибавляют к нему фенолрот и доводят рН до  $7,4 \pm 0,2$  прибавлением едкого кали или щавелевой кислоты. Исправление реакции производят перед каждым употреблением.



## Показатели экстинкции (E)

Т

Показатель шкалы Д%	E	Показатель шкалы Д%	E	Показатель шкалы Д%	E
100	0,000	50	0,301	32	0,495
99	0,004	49,5	0,305	31,8	0,498
98	0,009	49	0,310	31,6	0,500
97	0,013	48,5	0,314	31,4	0,503
96	0,018	48	0,319	31,2	0,506
95	0,022	47,5	0,323	31	0,509
94	0,027	47	0,328	30,8	0,511
93	0,032	46,5	0,333	30,6	0,514
92	0,036	46	0,337	30,4	0,517
91	0,041	45,5	0,342	30,2	0,520
90	0,046	45	0,347	30	0,523
89	0,051	44,5	0,352	29,8	0,526
88	0,056	44	0,357	29,6	0,529
87	0,061	43,5	0,362	29,4	0,532
86	0,066	43	0,367	29,2	0,535
85	0,071	42,5	0,372	29	0,538
84	0,076	42	0,377	28,8	0,541
83	0,081	41,5	0,382	28,6	0,544
82	0,086	41	0,387	28,4	0,547
81	0,092	40,5	0,393	28,2	0,550
80	0,097	40	0,398	28	0,552
79	0,102	39,8	0,400	27,8	0,556
78	0,108	39,6	0,402	27,6	0,559
77	0,114	39,4	0,405	27,4	0,562
76	0,119	39,2	0,407	27,2	0,565
75	0,125	39	0,409	27	0,569
74	0,131	38,8	0,411	26,8	0,572
73	0,137	38,6	0,413	26,6	0,575
72	0,143	38,4	0,416	26,4	0,578
71	0,149	38,2	0,418	26,2	0,582
70	0,155	38	0,420	26	0,585
69	0,161	37,8	0,423	25,8	0,588
68	0,168	37,6	0,425	25,6	0,592
67	0,174	37,4	0,427	25,4	0,595
66	0,181	37,2	0,430	25,2	0,599
65	0,187	37	0,432	25	0,602
64	0,194	36,8	0,434	24,8	0,606
63	0,201	36,6	0,437	24,6	0,609
62	0,208	36,4	0,439	24,4	0,613
61	0,215	36,2	0,441	24,2	0,616
60	0,222	36	0,444	24	0,620
59,5	0,226	35,8	0,446	23,8	0,623
59	0,229	35,6	0,449	23,6	0,627
58,5	0,233	35,4	0,451	23,4	0,631
58	0,237	35,2	0,454	23,2	0,635
57,5	0,240	35	0,456	23	0,638
57	0,244	34,8	0,458	22,8	0,642
56,5	0,248	34,6	0,461	22,6	0,646
56	0,252	34,4	0,463	22,4	0,650
55,5	0,256	34,2	0,466	22,2	0,654
55	0,260	34	0,469	22	0,658
54,5	0,264	33,8	0,471	21,8	0,662
54	0,268	33,6	0,474	21,6	0,666
53,5	0,272	33,4	0,477	21,4	0,670
53	0,276	33,2	0,480	21,2	0,674
52,5	0,280	33	0,482	21	0,678
52	0,284	32,8	0,484	20,8	0,682
51,5	0,288	32,6	0,487	20,6	0,686
51	0,292	32,4	0,490	20,4	0,690
50,5	0,297	32,2	0,492	20,2	0,695



Показатель шкалы D%	E	Показатель шкалы D%	E	Показатель шкалы D%	E
20	0,699	14	0,854	8	1,097
19,9	0,701	13,9	0,857	7,9	1,102
19,8	0,703	13,8	0,860	7,8	1,108
19,7	0,706	13,7	0,863	7,7	1,114
19,6	0,708	13,6	0,867	7,6	1,119
19,5	0,710	13,5	0,870	7,5	1,125
19,4	0,712	13,4	0,873	7,4	1,131
19,3	0,714	13,3	0,876	7,3	1,137
19,2	0,717	13,2	0,879	7,2	1,143
19,1	0,719	13,1	0,883	7,1	1,149
19	0,721	13	0,886	7	1,155
18,9	0,724	12,9	0,889	6,9	1,161
18,8	0,726	12,8	0,893	6,8	1,168
18,7	0,728	12,7	0,896	6,7	1,174
18,6	0,731	12,6	0,900	6,6	1,181
18,5	0,733	12,5	0,903	6,5	1,187
18,4	0,735	12,4	0,907	6,4	1,194
18,3	0,738	12,3	0,910	6,3	1,201
18,2	0,740	12,2	0,914	6,2	1,208
18,1	0,742	12,1	0,917	6,1	1,215
18	0,745	12	0,921	6	1,222
17,9	0,747	11,9	0,925	5,9	1,229
17,8	0,750	11,8	0,928	5,8	1,237
17,7	0,752	11,7	0,932	5,7	1,244
17,6	0,755	11,6	0,936	5,6	1,252
17,5	0,757	11,5	0,939	5,5	1,260
17,4	0,760	11,4	0,943	5,4	1,268
17,3	0,762	11,3	0,947	5,3	1,276
17,2	0,765	11,2	0,951	5,2	1,284
17,1	0,767	11,1	0,955	5,1	1,292
17	0,770	11	0,959	5	1,301
16,9	0,772	10,9	0,963	4,9	1,310
16,8	0,775	10,8	0,967	4,8	1,319
16,7	0,777	10,7	0,971	4,7	1,328
16,6	0,780	10,6	0,975	4,6	1,337
16,5	0,783	10,5	0,979	4,5	1,347
16,4	0,785	10,4	0,983	4,4	1,357
16,3	0,788	10,3	0,987	4,3	1,367
16,2	0,791	10,2	0,991	4,2	1,377
16,1	0,793	10,1	0,996	4,1	1,387
16	0,796	10	1,00	4	1,398
15,9	0,799	9,9	1,004	3,9	1,409
15,8	0,801	9,8	1,009	3,8	1,420
15,7	0,804	9,7	1,013	3,7	1,432
15,6	0,807	9,6	1,018	3,6	1,444
15,5	0,810	9,5	1,022	3,5	1,456
15,4	0,813	9,4	1,027	3,4	1,469
15,3	0,815	9,3	1,032	3,3	1,482
15,2	0,818	9,2	1,036	3,2	1,495
15,1	0,821	9,1	1,041	3,1	1,509
15	0,824	9	1,046	3	1,523
14,9	0,827	8,9	1,051	2,9	1,538
14,8	0,830	8,8	1,056	2,8	1,552
14,7	0,833	8,7	1,061	2,7	1,569
14,6	0,836	8,6	1,066	2,6	1,585
14,5	0,839	8,5	1,071	2,5	1,602
14,4	0,842	8,4	1,076	2,4	1,620
14,3	0,845	8,3	1,081	2,3	1,638
14,2	0,848	8,2	1,086	2,2	1,658
14,1	0,851	8,1	1,092	2,1	1,678



Показатель шкалы D%	E	Показатель шкалы D%	E	Показатель шкалы D%	E
2	1,699	1,6	1,796	1,2	1,921
1,95	1,710	1,55	1,810	1,15	1,939
1,9	1,721	1,5	1,824	1,1	1,959
1,85	1,733	1,45	1,839	1,05	1,979
1,8	1,745	1,4	1,854	1	2,0
1,75	1,757	1,35	1,870	0,5	2,301
1,7	1,770	1,3	1,886	0,1	3,0
1,65	1,783	1,25	1,903		

Приготовленный таким образом раствор отмеривают в пробирку, предназначенную для взятия крови, в таком количестве, чтобы концентрация оксалатов не превышала 3 мг на 1 см<sup>3</sup> (0,01 см<sup>3</sup> раствора на 1 см<sup>3</sup> крови). Посредством поворачивания пробирки смачивают ее стенки раствором и оставляют для высушивания на воздухе, не подогревая, так как при высокой температуре оксалаты разлагаются с образованием щелочного карбоната.

При стоянии в крови происходит ряд изменений, отражающихся на результате исследований: разложение глюкозы с образованием молочной кислоты (гликолиз) — изменяются количество сахара, молочной кислоты, реакция и напряжение CO<sub>2</sub> и т. д.; разложение азотистых соединений с образованием аммиака и продуктов распада белков; гидролиз органических фосфатов клеток с образованием неорганических фосфатов, диффундирующих в плазму, что, естественно, отражается на определении неорганических фосфатов; изменение проницаемости оболочки красных кровяных клеток, вследствие чего изменяется распределение неорганических соединений между клетками и плазмой; дыхание клеток с образованием углекислоты и поглощением кислорода. Поэтому при работе с плазмой или сывороткой отделение их от клеток должно производиться по возможности скоро, во всяком случае в течение часа; при работе с цельной кровью она должна в возможно краткий срок подвергнуться дальнейшей обработке.

### ПОЛУЧЕНИЕ БЕЗБЕЛКОВОГО ФИЛЬТРАТА

Для большинства определений составных частей крови первым этапом является осаждение белков и получение прозрачного безбелкового фильтрата, капля которого, смешанная на часовом стекле с каплей 20% раствора сульфосалициловой кислоты, не давала бы никакого помутнения. Для этой цели было предложено много различных способов, из которых в настоящее время широким распространением пользуются лишь несколько.

1) Осаждение трихлоруксусной кислотой. Продажные препараты хорошего качества обычно не нуждаются в дальнейшем очищении; плохой препарат можно очистить перегонкой в вакууме при давлении в 15—20 мм. При отвешивании трихлоруксусной кислоты нельзя пользоваться ложками роговыми или из другого органического материала; пользуются только стеклянными или фарфоровыми. Отвешивание должно производиться быстро, так как кристаллы трихлоруксусной кислоты жадно



поглощают воду. Пользуются обычно 5, 10 или 20% раствором. Конечная концентрация трихлоруксусной кислоты должна быть 4—8%. Кровь вливают в раствор трихлоруксусной кислоты медленно, не прекращая помешивания. Смеси дают стоять 10 минут и фильтруют или центрифугируют. Полученный фильтрат имеет резко кислую реакцию; поэтому таким способом осаждения белков особенно охотно пользуются при таких исследованиях, когда выгодно иметь такую реакцию например, при определении фосфора.

2) Осаждение вольфрамовой кислотой по Фолину и др. а) Старый способ. Приготовление безбелкового фильтрата из гемолизированной крови. Реактивы: 1) 10% раствор вольфрамовокислого натрия ( $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Реакция раствора не должна быть слишком кислой, иначе не будет достигнуто полное осаждение белков. Поэтому исправлять реакцию следует, определив на небольшой порции раствора то количество щелочи, которое требуется, чтобы сделать реакцию раствора очень слабо щелочной на фенолфталеин. Для этого из приготовленного 10% раствора отмеривают 10 см<sup>3</sup>, прибавляют 1—2 капли фенолфталеина и приливают п/10 раствор едкого натра. Зная, например, какое количество едкого натра было затрачено для получения в 10 см<sup>3</sup> испытуемого раствора стойкого слаборозового окрашивания, нетрудно вычислить, сколько щелочи нужно прибавить к оставшемуся количеству раствора; 2)  $\frac{2}{3}$  п раствор серной кислоты (или п/12 — см. ниже): 200 см<sup>3</sup> нормальной серной кислоты, отмеренной мерной колбочкой, приливают к 100 см<sup>3</sup> воды. Обычно для осаждения белков крови реактивы берут в следующем соотношении: к 7 объемам воды прибавляют 1 объем крови, 1 объем вольфрамовокислого натрия и 1 объем серной кислоты. При этом способе осаждения некоторое количество остаточного азота захватывается осадком и, следовательно, теряется при определении. Чтобы избежать этого, нужно прибавлять это количество серной кислоты в 2 приема с промежутком в 20—30 минут. Та же цель достигается более простым образом, если вместо  $\frac{2}{3}$  п раствора серной кислоты пользоваться п/12 раствором.

Ход осаждения. В отмеренные в эрленмейеровскую колбочку 7 объемов воды очень медленно опускают на дно 1 объем крови, ополаскивают пипетку верхним оставшимся чистым слоем воды, смешивают, оставляют стоять 10 минут до полного гемолиза, прибавляют 1 объем вольфрамата, смешивают; прибавляют медленно, по каплям, все время помешивая, 1 объем серной кислоты и тщательно смешивают. Если осаждение произведено правильно, смесь через несколько секунд принимает бурокрасный оттенок и при не слишком сильном взбалтывании жидкость дает не пену, а только несколько крупных пузырей. Ее оставляют стоять 5 или 10 минут, фильтруют сквозь плотный фильтр. Если что-либо препятствовало правильному полному осаждению белков, например, избыток щавелевокислого калия, то осадок получается красный и образуется пена. Можно попытаться спасти исследование, прибавляя по каплям серную кислоту, но это не всегда удается; кроме того, слишком кислый фильтрат не благоприятствует некоторым определениям.

Или же к 1 объему крови прибавляют медленно, все время помешивая, 8 объемов п/12 серной кислоты и затем тоже с помешиванием 1 объем вольфрамовокислого натрия; тщательно смешивают, спустя несколько минут фильтруют.

б) Новый способ. Получение безбелкового фильтрата из негемолизированной крови. Реактивы: 1) раствор, содержащий в 1 л воды



6 г вольфрамвокислого натрия и 15 г безводного сернокислого натрия (или 33 г глауберовой соли  $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ); 2) п/3 раствор серной кислоты.

**Ход осаждения.** Отмеривают в эрленмейеровскую колбочку 8 объемов вольфрамового реактива (1), спускают в него 1 объем крови. Смешивают осторожно, без резких движений, оставляют стоять 5 минут или больше, если это представляется удобным; прибавляют 1 объем серной кислоты (2), слегка взбалтывая. Взбалтывание продолжают еще 1 минуту. Тотчас фильтруют сквозь складчатый фильтр; продолжительность процедуры имеет большое значение для получения безукоризненного фильтрата. Фильтрование должно продолжаться не больше 25 минут, иначе клетки пострадают, кровь гемолизируется и не получится безбелкового фильтрата.

Фильтрат из негемолизированной крови имеет более кислую реакцию, чем приготовленный по старому способу. 10 см<sup>3</sup> фильтрата при титровании на фенолфталеин требуют 0,6—0,7 см<sup>3</sup> п/10 едкой щелочи.

И в том, и в другом случае фильтрование можно заменить центрифугированием.

**в) Приготовление безбелкового фильтрата из плазмы или сыворотки.** Для осаждения белков плазмы или сыворотки можно пользоваться как новым, так и старым способом; разница между тем и другим фильтратом будет заключаться только в содержании сернокислого натрия, которого в первом, по новому способу, больше, чем во втором. При пользовании новым способом в отношении сыворотки или плазмы отпадает пятиминутный перерыв между прибавлением первого и второго реактива. Так как плазма и сыворотка содержат меньше белка, чем цельная кровь, то можно приготовить более концентрированные фильтраты. При обработке крови она подвергается 10-кратному разведению (7 объемов воды и по 1 объему обоих реактивов на 1 объем крови); из плазмы или сыворотки можно приготовить фильтрат, разведенный в 5 раз: 1 объем плазмы, 2 объема воды, 1 объем 5% (вместо 10%) раствора вольфрамвокислого натрия, 1 объем п/3 серной кислоты. Впрочем, можно изготовить подобный концентрированный фильтрат и из цельной крови.

**3) Осаждение фосфорномолибденовой кислотой.** 5 г безводного натрия и 5 г фосфорномолибденовокислого натрия растворяют в 75 см<sup>3</sup> воды, прибавляют 5—8 капель 33% раствора едкого натра и кипятят 20 минут. Переносят в литровую мерную колбу, прибавляют 15 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты и 0,25 глюкозы и доливают водой до метки.

Для осаждения белков в цельной крови берут десятикратный объем этого осадителя, например, на 0,2 см<sup>3</sup> крови 2 см<sup>3</sup> фосфорномолибденовой кислоты.

Фосфорновольфрамовая и фосфорномолибденовая кислоты осаждают из крови (сыворотки, плазмы) белки и полипептиды, а трихлоруксусная кислота полипептидов не осаждают — они остаются в растворе; поэтому при определении остаточного азота после осаждения трихлоруксусной кислотой цифра получается несколько бо́льшая, чем при работе с двумя первыми осадителями. Разница эта обычно не превышает нескольких миллиграммов на 10 см<sup>3</sup> крови или сыворотки, но при патологических условиях она может быть больше (см. «Определение полипептидов»).

Имеются и другие способы осаждения белков крови, которые будут описаны в соответствующих методиках.



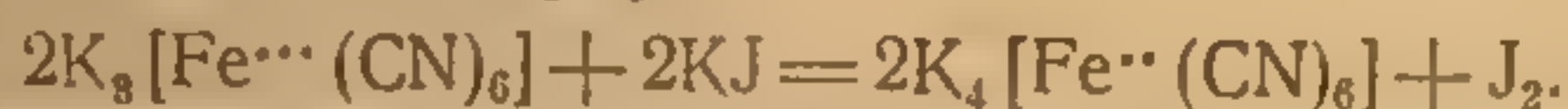
## Б. ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ САХАРА

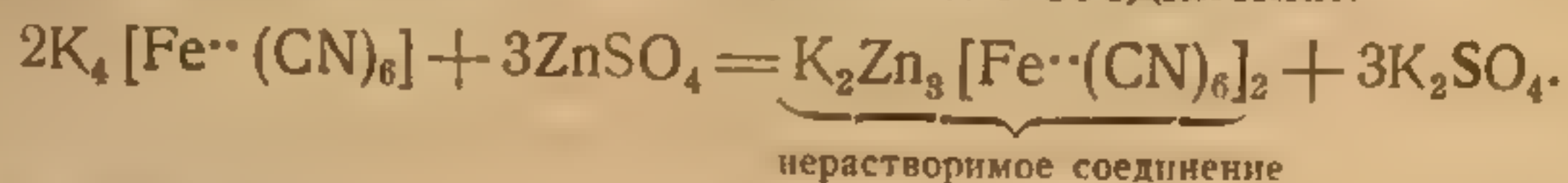
1) Способ Хагедорна и Иенсена. Определение количества сахара в крови принадлежит к числу исследований, наиболее часто производимых в лабораториях клинического типа. Огромное большинство лабораторий в СССР пользуется для этой цели способом, предложенным Хагедорном и Иенсеном.

Принцип. Трехвалентный железосинеродистый калий при кипячении в щелочной среде в присутствии восстанавливающих веществ переходит в двухвалентный железистосинеродистый калий. Восстанавливающим веществом в данном случае служит виноградный сахар (и другие восстанавливающие вещества крови). Образовавшийся железистосинеродистый калий осаждается в виде двойной цинк-калиевой соли (иначе возможна обратная реакция), а количество оставшегося невосстановленного железосинеродистого калия определяют, прибавляя избыток иодистого калия и кислоты. Железосинеродистый калий количественно восстанавливается иодистым калием, причем освобождается эквивалентное количество свободного иода.

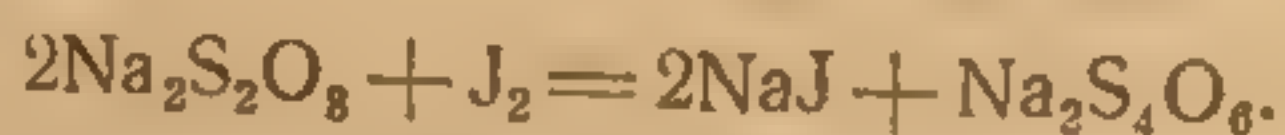
Реакция протекает по формуле:



Эта реакция, как указано выше, протекает количественно слева направо, только если образовавшееся двухвалентное соединение удаляется из смеси путем осаждения в виде цинкового соединения:



Освободившийся иод оттитровывают гипосульфитом натрия. Реакция протекает по формуле:



Из изложенного ясно, что мы определяем в сущности не только виноградный сахар, а и некоторые другие восстанавливающие вещества, содержащиеся в крови. При осаждении цинковыми солями количество этих веществ, однако, меньше, чем в прежних способах.

Требуемое количество крови: 0,1 см<sup>3</sup> (100 мм<sup>3</sup>) на каждое определение, т. е. всего 0,2 см<sup>3</sup>.

Кровь берут из кончика пальца или мочки уха градуированной микропипеткой емкостью 100 мм<sup>3</sup>. Пипетка должна быть совершенно чистой и сухой. Для двух параллельных определений пользуются двумя пипетками или же пипетку после первого взятия крови быстро и тщательно прополаскивают несколько раз водой, спиртом и эфиром и просушивают струей воздуха. Чтобы взятие крови происходило быстро, без выдавливания, и кровь не свернулась, рука больного должна быть теплой, а укол достаточно глубоким.

Реактивы: 1) 0,45% раствор сернокислого цинка (ZnSO<sub>4</sub>); готовят в запас 45% раствор сернокислого цинка и из него по мере надобности, не реже чем каждые 10—14 дней, готовят требуемое столкратное разведение; 2) п/10 раствор едкого натра. Титр может быть не вполне точным, но концентрация его ни в коем случае не должна значительно превышать указанную. Смесь этих двух реактивов, приготавливаемая перед употреблением (см. ниже), служит для осаждения белков;



3) содово-щелочной раствор железосинеродистого калия (красной кровяной соли)  $[K_2Fe^{+}(CN)_6]$ . Раствор готовят из химически чистого препарата, но и самые лучшие продажные препараты предпочтительно очистить перекристаллизацией; кристаллы промывают несколькими порциями холодной воды и затем растворяют в кипящей воде. Раствор фильтруют сквозь маленький фильтр, предварительно промытый горячей дистиллированной водой. Фильтрат помещают в фарфоровую чашку, которую ставят в лед. Избыток воды с выпавших на холоду кристаллов удаляют промытой фильтровальной бумагой и помещают кристаллы для высушивания в сушильный шкаф при  $50^\circ$  или в термостат. Очищенный таким образом препарат при хранении в темном месте неограниченно стоек. 1,65 г препарата точно отвешивают на аналитических весах, переносят в мерную колбу емкостью в 1 л, растворяют в воде, прибавляют 10,6 г безводного (прокаленного в платиновом или фарфоровом тигле и охлажденного в эксикаторе) углекислого натрия и доводят водой до метки. Раствор хранят в темной бутылке на холоду, титр его не изменяется в течение 2 месяцев; 4) хлорцинк-иодистый раствор: а) 50 г сернокислого цинка и 250 г хлористого натрия растворяют в 1 л воды; если нужно, фильтруют; б) перед употреблением отвешивают такое количество иодистого калия, чтобы получить 2,5% раствор: например, к 50 см<sup>3</sup> цинкхлор-натриевого раствора прибавляют 1,25 г иодистого калия; 5) 3% уксусная кислота; 3 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты отмеривают в мерную колбу емкостью в 100 см<sup>3</sup> и доливают дистиллированной воды до метки; 6) 1% раствор крахмала; приготовленный заранее насыщенный раствор хлористого натрия наливают в мерную колбу емкостью в 100 см<sup>3</sup> более чем до половины; 1 г растворимого крахмала (*Amylum solubile*) растворяют в пробирке в нескольких кубических сантиметрах дистиллированной воды при нагревании, выливают в ту же колбу и доливают тем же раствором хлористого натрия до метки. Раствор неограниченно стоек; с иодом он должен давать чисто синее окрашивание; 7) п/200 раствор гипосульфита. Его готовят перед употреблением из п/10 раствора, отмеривая точно 5 см<sup>3</sup> в мерную колбу емкостью в 100 см<sup>3</sup> и доливая прокипяченной (для изгнания углекислоты) дистиллированной водой до метки. Титр гипосульфита проверяют по титрованному раствору  $KJO_3$  (см. ниже — 8) каждый раз при приготовлении нового раствора и повторяют проверку не реже 1 раза в неделю. Для этой цели отливают в стаканчик точной пипеткой 2 см<sup>3</sup> п/200 раствора иодноватокислого калия, прибавляют 2 см<sup>3</sup> уксусной кислоты (5), 2 см<sup>3</sup> хлорцинк-иодистого раствора (4) и 2—3 капли крахмала (6) и титруют гипосульфитом из микробюретки до исчезновения окраски; 8) п/200 раствор иодноватокислого калия; 0,3567 г отвешивают на аналитических весах и растворяют в 2 л дистиллированной воды; 9) для фильтрации свернувшейся при кипячении крови (см. ниже) нужно заготовить вату. Обычная продажная гигроскопическая вата всегда содержит некоторое количество восстанавливающих веществ, что отражается на результате. Поэтому вату нужно заранее повторно прокипятить в дистиллированной воде, каждый раз сливая и отжимая воду; промытая таким образом и высушенная вата вполне пригодна к употреблению. Если пользуются фильтровальной бумагой (хорошие сорта беззольных фильтров), то перед фильтрованием крови промывают их горячей дистиллированной водой.

Оборудование: 1) две (или одна, см. выше) микропипетки емкостью в 100 мм<sup>3</sup>; 2) пробирки диаметром около 15 мм, по две на каждое исследование (два параллельных определения); желательно иметь



металлический штатив, вместе с которым эти пробирки могли бы быть впоследствии перенесены в кастрюлю с кипящей водой; 3) стеклянные воронки диаметром 3—4 см, по две на каждое определение; 4) плоскодонные стаканчики или пробирки диаметром 3—4 см и вышиной около 10—12 см, два на каждое определение; желательно для них тоже иметь соответствующий металлический штатив; 5) очень точная пипетка Мора, желательно с двумя метками, емкостью в 2 см<sup>3</sup>; 6) пипетка Мора емкостью в 1 см<sup>3</sup>; 7) пипетка Мора емкостью в 5 см<sup>3</sup>; 8) две градуированные пипетки емкостью в 10 см<sup>3</sup>; 9) несколько мерных колб емкостью в 50, 100 или 200 см<sup>3</sup>; 10) микробюретка емкостью в 2 см<sup>3</sup> с делениями на  $\frac{1}{100}$  см<sup>3</sup>.

**Ход определения.** Устанавливают в штативе пробирки в количестве, вдвое большем по отношению к предполагаемому числу исследований; снабжают их соответствующими номерами, причем обычно две параллельные пробирки помечают одинаковым номером. В каждую отмеривают по 5 см<sup>3</sup> 0,45% раствора сернокислого цинка (1) и по 1 см<sup>3</sup> n/10 едкого натра (2); при этом образуется хлопьевидный осадок гидрата окиси цинка. Набирают в микропипетку кровь из пальца, тщательно вытирают кончик пипетки и выдувают кровь в приготовленную смесь; несколько раз набирают ее в пипетку и вновь выдувают, чтобы смыть всю кровь со стенок пипетки.

Пробирки с кровью могут стоять несколько часов без заметного влияния на результат анализа, так как сернокислый цинк задерживает гликолиз; поэтому можно набрать таким образом кровь у всех подлежащих исследованию больных. Штатив с пробирками переносят в кипящую водяную баню (таковой может служить обыкновенная кастрюля) на 3 минуты. Тем временем заготавливают штатив со стаканчиками (широкими пробирками), носящими те же номера, как и пробирки; снабжают каждый воронкой, в которую вложен комочек ваты (9), смоченный водой и слегка утрамбованный стеклянной палочкой. Жидкость из каждой пробирки фильтруют в соответствующий стаканчик, после чего в пробирку наливают 3 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, встряхивают, выливают в ту же воронку, еще раз наливают 3 см<sup>3</sup> воды и выливают в воронку (ополаскивание пробирки и промывание ватного фильтра). Для быстрого приливания воды в серию пробирок удобно наливать воду в бюретку. Если количество ваты не слишком велико и она не чересчур плотно утрамбована, то фильтрование совершается быстро, и вместе с тем фильтрат должен быть совершенно бесцветным и прозрачным. Когда вся жидкость профильтровалась до последней капли, воронки снимают и в каждый стаканчик прибавляют очень точной пипеткой ровно 2 см<sup>3</sup> железосинеродистого раствора (3), после чего штатив со стаканчиками переносят в кипящую водяную баню (кастрюлю) ровно на 15 минут; вода в кастрюле должна все время кипеть. По истечении указанного срока штатив со стаканчиками вынимают и переносят на несколько минут в тепловатую, а потом в холодную воду. Охлажденный раствор может стоять несколько часов без вреда для дальнейшего определения. По охлаждении приливают в каждый стаканчик по 2 см<sup>3</sup> иод-цинкхлор-натриевого реактива (4) и уксусной кислоты (5); так как при этом не требуется большой точности, то можно для скорости пользоваться градуированными пипетками емкостью в 10 см<sup>3</sup>; прибавляют по 3—4 капли крахмала и титруют n/200 раствором гипосульфита натрия до момента полного обесцвечивания. Отмечают количество потраченного гипосульфита для каждой из двух параллельных пробирок. Одновременно с пробирками, содержащими испытуемую кровь, ставят и слепой опыт, т. е. определяют восстанавливающее

действие  
реактив  
их кипя  
чество  
кпяты  
пробир  
реактив  
чаяние  
гипосу  
Вычисл  
определ  
по прила  
Если тит  
микробу  
величины  
восстан  
соответс  
ществ) в 100

(Истрачен

Показания  
микробу  
ретки

0,0  
0,1  
0,2  
0,3  
0,4  
0,5  
0,6  
0,7  
0,8  
0,9  
1,0  
1,1  
1,2  
1,3  
1,4  
1,5  
1,6  
1,7  
1,8  
1,9

При  
сульфита  
величина  
первом  
4 и 5;  
еще нуж  
рование  
Из 187  
сахара в  
11 Руково



действие самих реактивов. Для этого в две пробирки отмеривают реактивы (1) и (2) точно так же, как в пробирки с кровью; подвергают их кипячению, фильтрованию и промыванию; прибавляют такое же количество железосинеродистого реактива, как и во все остальные пробирки, кипятят и т. д. — словом, обрабатывают их так же, как все остальные пробирки, и так же титруют. При этом, если титр железосинеродистого реактива правилен, вата была хорошо промыта и т. п., то на обесцвечивание жидкости в слепом опыте должно затрачиваться 1,98—1,96 см<sup>3</sup> гипосульфита.

Вычисление. Для каждого исследования берут среднее из двух определений (если расхождение не слишком велико, см. выше) и ищут по прилагаемой таблице, какому количеству глюкозы оно соответствует. Если титр гипосульфита не вполне точен, то прежде всего в показание микробюретки вносят поправку, согласно фактору раствора. Из найденной величины вычитают то количество глюкозы, которому соответствует восстанавливающее действие самих реактивов. Полученная разность и соответствует количеству миллиграммов сахара (восстанавливающих веществ) в 100 см<sup>3</sup> крови (табл. 27).

Таблица 27

*Определение сахара в крови по Хагедорну*

(Истраченное количество п/200 гипосульфита эквивалентно миллиграммам виноградного сахара в 100 см<sup>3</sup> крови):

Показания микробю- ретки	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0,0	385	382	379	376	373	370	367	364	361	358
0,1	355	352	350	348	345	343	341	333	336	333
0,2	331	329	327	325	323	321	318	316	314	312
0,3	310	308	306	304	302	300	298	296	294	292
0,4	290	288	286	284	282	280	278	276	274	272
0,5	270	268	266	264	262	260	259	257	255	253
0,6	251	249	247	245	243	241	240	238	236	234
0,7	232	230	228	226	224	222	221	219	217	215
0,8	213	211	209	208	206	204	202	200	199	197
0,9	195	193	191	190	188	186	184	182	180	179
1,0	177	175	173	172	170	168	166	164	163	161
1,1	159	157	155	154	152	150	148	146	145	143
1,2	141	139	138	136	134	132	131	129	127	125
1,3	124	122	120	119	117	115	113	111	110	108
1,4	106	104	102	101	099	097	095	093	092	090
1,5	088	086	084	083	081	079	077	075	074	072
1,6	070	068	066	065	063	061	059	057	056	054
1,7	052	050	048	047	045	043	041	039	038	036
1,8	034	032	031	029	027	025	024	022	020	019
1,9	017	015	014	012	010	008	007	005	003	002

Пример. Потрачено на титрование пробирки с кровью 0,93 см<sup>3</sup> гипосульфита, на титрование параллельной пробирки — 0,96 см<sup>3</sup>; средняя величина, очевидно, будет находиться между 0,94 и 0,95 см<sup>3</sup>. Ищем в первом вертикальном столбце таблицы 0,9 и в верхней строчке — числа 4 и 5; на месте пересечения находим 188 и 186; берем 187; из этого еще нужно вычесть величину слепого опыта: предполагаем, что на титрование пошло 1,97 и 1,96 см<sup>3</sup>, что соответствует 007 и 005; берем 006. Из 187 нужно вычесть 006; 181 и означает количество миллиграммов сахара в 100 см<sup>3</sup> крови (181 мг%).



У здорового человека кровь содержит натошак от 70 до 100 (110)  $\text{mg}^0/\text{o}$ , обычно меньше 100  $\text{mg}^0/\text{o}$  сахара. При сахарной болезни уровень сахара может быть значительно повышен; описаны случаи, в которых количество его доходило до 700 и даже 800  $\text{mg}^0/\text{o}$ .

2) Диагностическое значение. Диагностическое значение определения количества сахара в крови огромно; это исследование принадлежит поэтому к числу наиболее распространенных. В первую очередь оно производится для отличия настоящего диабета от гликозурии другого происхождения. Появление сахара в моче не всегда, как известно, является признаком сахарной болезни; иногда оно обуславливается каким-то другим расстройством обмена: при нормальных условиях сахар в моче выделяется обычно, если уровень его в крови превышает некоторую величину (порог), значительно большую нормы (около 180  $\text{mg}^0/\text{o}$ ), при так называемой почечной гликозурии (иначе *diabetes innosens*) появление сахара

в моче наблюдается уже при нормальном или даже пониженном количестве его в крови (100  $\text{mg}^0/\text{o}$  и меньше).

Это состояние зависит в основном от изменения в почках, и в эксперименте оно может быть выявлено введением флоридзина, который тормозит фосфорилирование глюкозы, в связи с чем нарушается ее реадсорбция в канальцах. Поставить диагноз этого заболевания можно

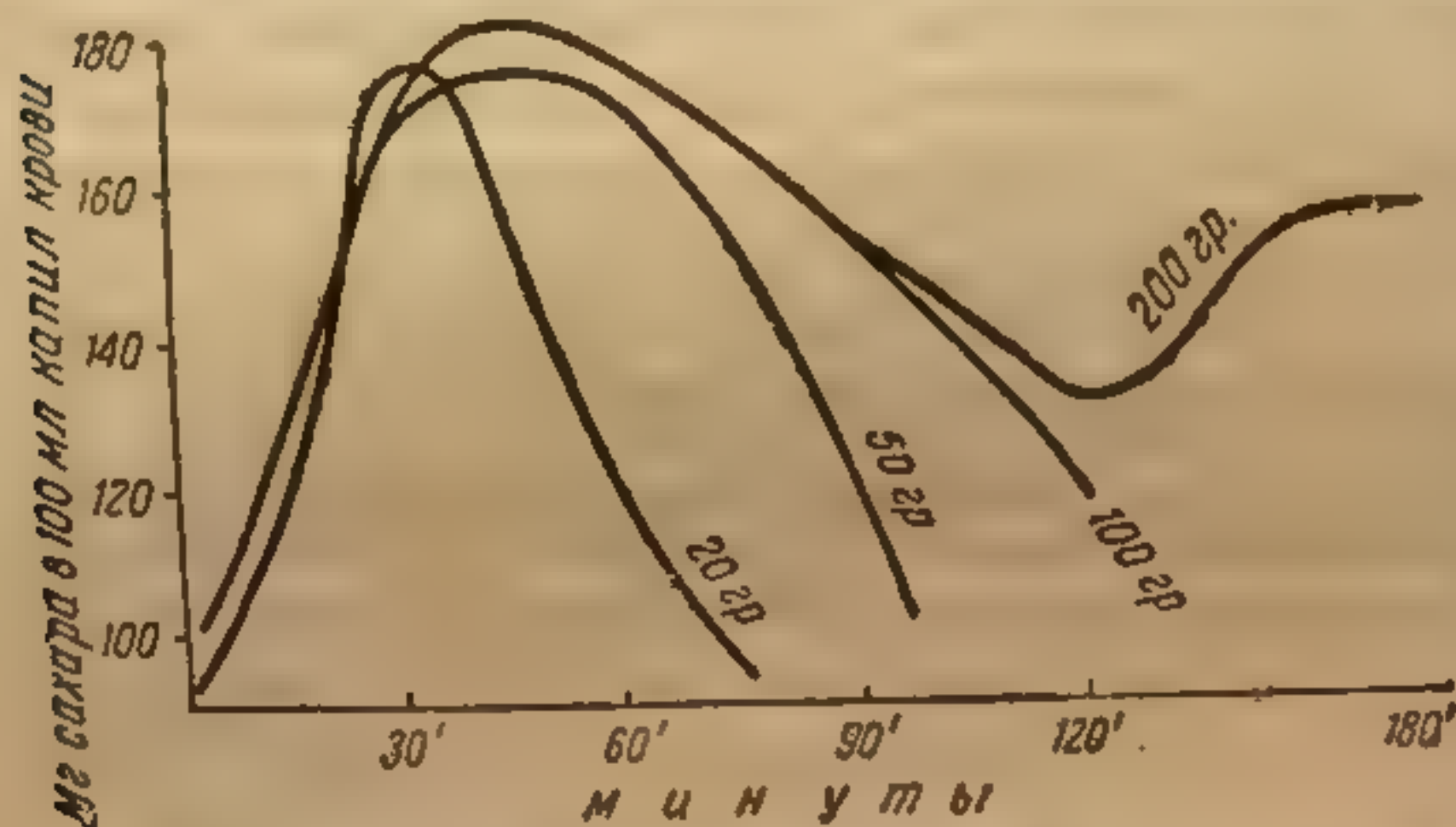


Рис. 65. Гликемические кривые при нагрузке различными количествами глюкозы.

но, только исследуя одновременно кровь и мочу: больному предлагают опорожнить мочевой пузырь и берут кровь; 30 минут спустя опять берут кровь из пальца и новую порцию мочи и определяют количество сахара.

Еще точнее ставится диагноз различных нарушений в усвояемости углеводов при помощи так называемых сахарных нагрузок. Этот способ заключается в том, что больному дают выпить натошак известное количество виноградного сахара (глюкозы) и затем отмечают характер подъема и понижения кривой сахара в крови и появление сахара в моче. Обычно дают около 1,75 г виноградного сахара на 1 кг веса. Взрослому приходится давать, следовательно, около 100 г глюкозы; однако уже 50 и даже 20 г дают одинаковый подъем сахара, при нагрузках же большими количествами падение уровня сахара до нормы замедляется (рис. 65). Обычно ограничиваются дачей 50 г глюкозы. Детям дают соответственно меньше.

Производство пробы. Глюкозу, растворенную в 200—250  $\text{cm}^3$  воды, дают натошак (можно давать через 3 часа после последнего приема пищи). Кровь берут до приема глюкозы и через 15, 30, 60, 90, 120 минут после приема. Одновременно собирают мочу. Больной перед приемом глюкозы должен опорожнить пузырь и собирать мочу каждые полчаса. В течение всего исследования испытуемый не должен получать ни еды, ни питья.

Для изучения полученных результатов их лучше всего изобразить в виде кривой: на линии ординат отмечают по горизонтали время, а по вертикали — глюкозу в миллиграмм-процентах. Полученные кривые следует изучать по трем направлениям: 1) начальное содержание сахара,



2) быстрота, высота подъема и 3) продолжительность гипергликемии и характер ее снижения. Основные изменения кривой бывают связаны с нарушением эндокринной системы.

При производстве пробы необходимо обращать внимание на предыдущий пищевой режим. Так, после обильной углеводной пищи сахарная нагрузка обычно дает более низкую кривую, а после режима, содержащего мало сахара, — более высокую; необходимо перед этой пробой держать больного 2—3 дня на смешанной пище без ограничения углеводов и без преобладания жиров.

Кривая здорового человека отличается быстрым подъемом; максимальный подъем наблюдается около 30 минут; количество сахара может при этом удваиваться. Сахара в моче у здоровых приблизительно в половине случаев не появляется вовсе или же он появляется только в момент наибольшего повышения его в крови, т. е. между 30 и 60 минутами.

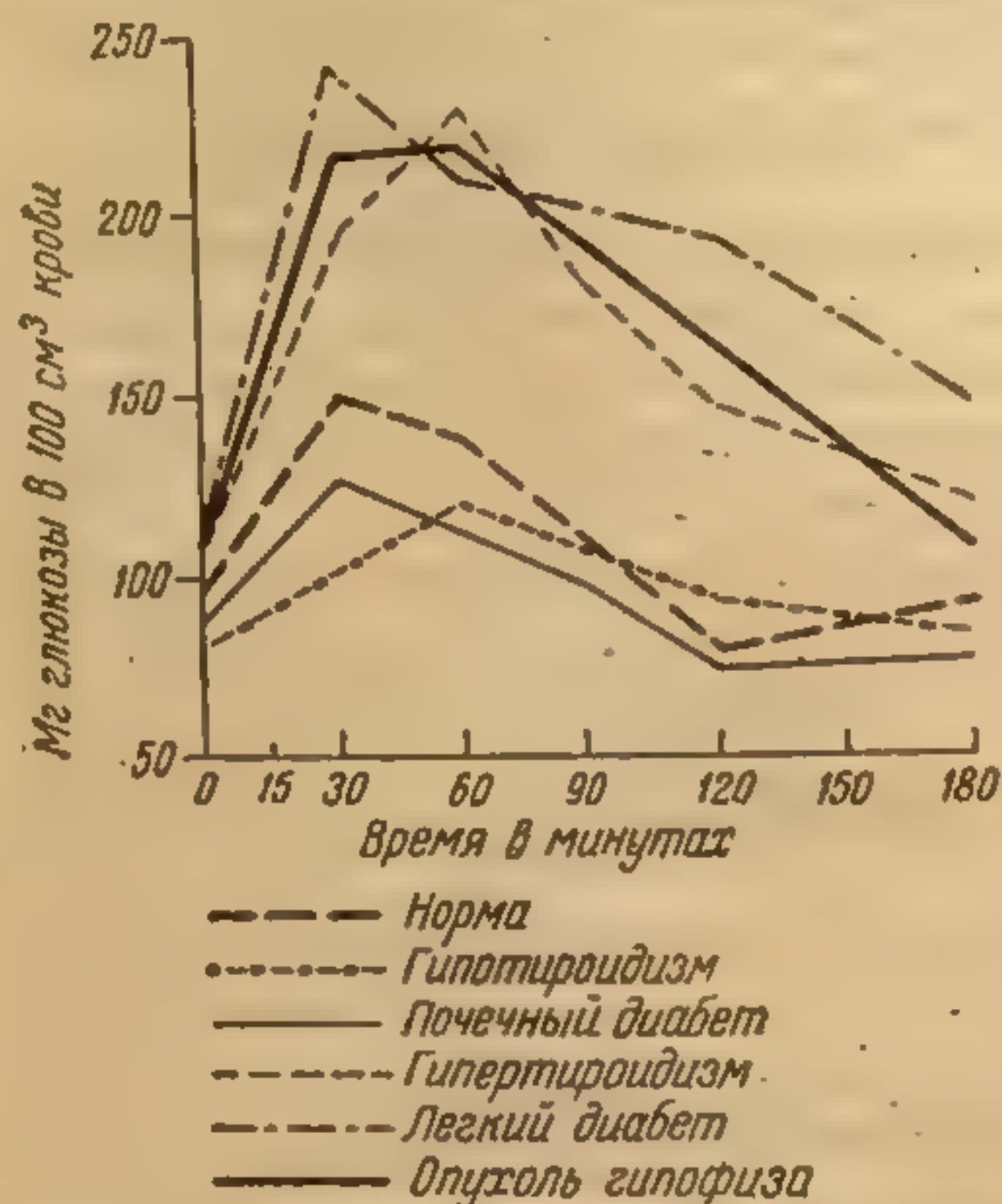


Рис. 65а. Кривые сахара после нагрузки 50 г глюкозы.

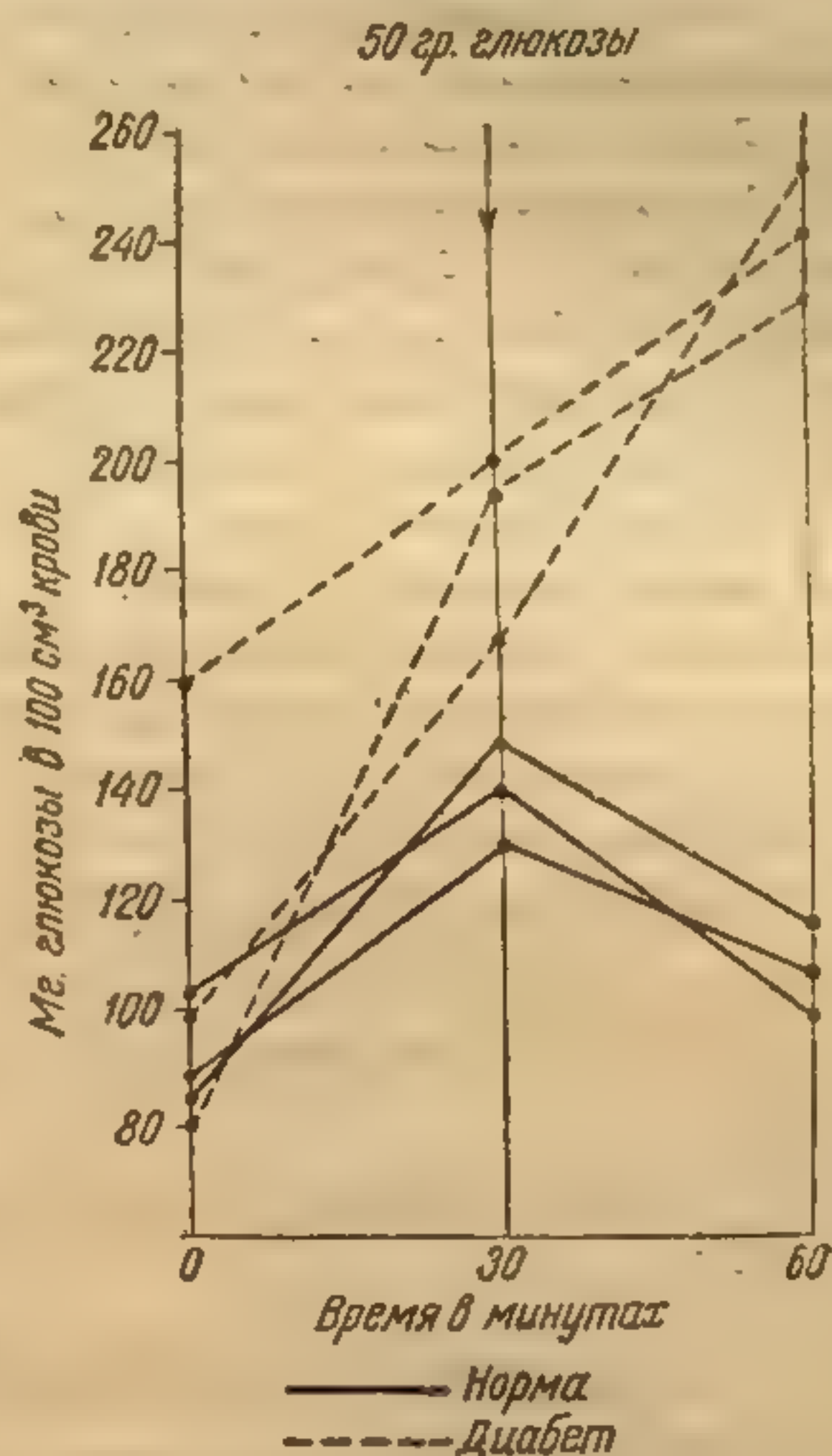


Рис. 65б. Кривые сахара после двойной нагрузки глюкозой.

При почечной глюкозурии кривая сахара в крови не отличается от нормальной, но сахар в моче появляется уже в течение первых 30 минут, когда уровень его в крови еще не превышает 140 мг%.

При сахарной болезни (диабете) уровень сахара в крови нарастает дольше и бывает максимальным через 30—60 минут или еще позднее, причем достигает очень высоких цифр.

Понижение кривой имеет не меньшее диагностическое значение, чем ее подъем. У здоровых количество сахара уменьшается быстро и через 1½—2—2½ часа возвращается к исходной величине, а в большинстве случаев оказывается даже ниже ее. То же наблюдается и при почечной глюкозурии. Наоборот, при диабете повышение держится 5—7 часов и возвращается к исходной величине очень медленно. При сильной нервной возбудимости подъем сахара после нагрузки бывает высоким.

Когда диагноз сахарной болезни установлен, исследования сахара в крови производятся систематически, иногда ежедневно или даже несколько



раз в день для контроля диетических и терапевтических мероприятий, в особенности при лечении инсулином.

Сравнительно высокий начальный уровень сахара бывает, кроме диабета, при гипертиреозидизме, акромегалии, опухолях и поражении мозга, некоторых формах гипертонии. Гипергликемия может наблюдаться при увеличенной секреции адреналина (опухоли надпочечника).

Гипогликемия имеет место при гиперинсулинизме, голодании (что больше заметно у детей), гипопитуитаризме, аддисоновой болезни. Она может появиться в послеоперационном периоде как следствие длительного наркоза и голодания.

Эти состояния соответственно влияют и на форму гликемической кривой (рис. 65а).

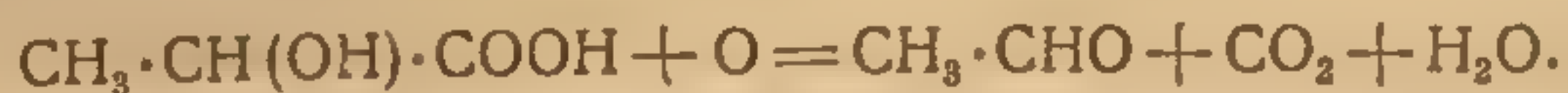
Особый интерес приобрела проба с двойной нагрузкой. Начало пробы проводится обычно, но через полчаса после первой пробы дается еще 50 г глюкозы. В норме этот прием не вызывает повышения сахара; происходит даже его понижение, правда, значительно медленнее. Это показывает, что инсулярный аппарат поджелудочной железы в комплексе с другими железами внутренней секреции находится в хорошем состоянии. Наоборот, при диабете второе введение глюкозы вызывает последующий подъем (рис. 65б).

За неимением глюкозы можно производить нагрузку тростниковым сахаром (сахарозой) (50—60 г). Но ввиду того что сахароза является дисахаридом, подъем кривой зависит от состояния желудочно-кишечного тракта в большей степени, чем при глюкозе. Лучше делать нагрузку методом, который содержит глюкозу (50—60%).

Относительно определения печеночной недостаточности при помощи нагрузки глюкозой см. «Функциональные пробы печени», стр. 523.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ

Принцип. Молочную кислоту окисляют в ацетальдегид и углекислоту:



Ацетальдегид перегоняют в приемник, содержащий бисульфит натрия ( $\text{NaHSO}_3$ ) в избытке. Не связанный ацетальдегидом избыток бисульфита связывают иодом, разлагают соединение бисульфита с альдегидом содой и определяют количество находившегося в нем бисульфита иодометрическим титрованием.

Реактивы: 1) для осаждения белков по Фолину; 2) насыщенный на холоду раствор сернокислой меди и 2а) п/10 раствор едкого натра; 3) сухой гидрат окиси кальция; хранят в стеклянной банке с хорошо пригнанной пробкой; 4) реактив для окисления: к небольшому количеству п/100 раствора марганцовокислого калия прибавляют по каплям слабый раствор сернокислого марганца почти до полного обесцвечивания; 5) двухмолярный раствор фосфорной кислоты: 135 см<sup>3</sup> 85% фосфорной кислоты доводят в мерной колбе до 1 л; 6) 10% раствор сернокислого марганца ( $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) или раствор (6а) сернокислого марганца, содержащий серную кислоту (сернокислый марганец 100 г,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  концентрированная 285 см<sup>3</sup>, дистиллированная вода до 1 л); 7) насыщенный раствор (или порошок) двууглекислого натрия; 8) 1% раствор бисульфита натрия; 9) 1% раствор крахмала; 10) п/10 раствор иода (стр. 137); из него перед употреблением готовят п/100 раствор; 11) 25% раствор сернокислой меди;



12) мелкий порошок талька; 13) п/10 раствор гипосульфита натрия;  
14) фтористый натрий.

наружная его стенка переходит непосредственно в трубку, идущую в пробку колбы А. В стенках этого стакана происходит охлаждение паров ацетальдегида и переход его в приемник Г через впаянную в наружный цилиндр холодильника вверх справа трубку е, изогнутую дальше под прямым углом и впаянную в шлифованную пробку приемника Г. Внутри стакана проходит стеклянная трубка ж, впаянная в верхнюю часть наружного цилиндра холодильника; через эту трубку вода удаляется из холодильника. В пробке приемника, полой внутри, трубочка е заканчивается шлифом, на который во время опыта насаживается шлифованная стеклянная трубочка з, доходящая до дна приемника и имеющая маленькие отверстия в нижнем отрезке для более замедленного прохождения ацетальдегида с целью лучшего его связывания бисульфитом. В пробку приемника слева впаяна трубочка для выделения тока воздуха из прибора. Приемник Г состоит из грушевидной колбы на 50 см<sup>3</sup> с сужением в нижней трети, где стоит метка 10. Выше этой метки приемник расширяется и имеет шлиф для присоединения к трубке, по которой поступает ацетальдегид. По окончании опыта приемник снимается вместе с трубочкой з, которая в дальнейшем служит мешалкой (см. ниже), а по окончании исследования моется вместе с приемником. Дистилляционная колба А и трубочка б моются раствором щавелевой кислоты так же, как и воронка Б, где находится перманганат. Остальные части прибора остаются нетронутыми.

2) **Ход определения.** Пользуются только что взятой цельной кровью; если это невозможно, берут кровь в сосуд, в котором содержится столько

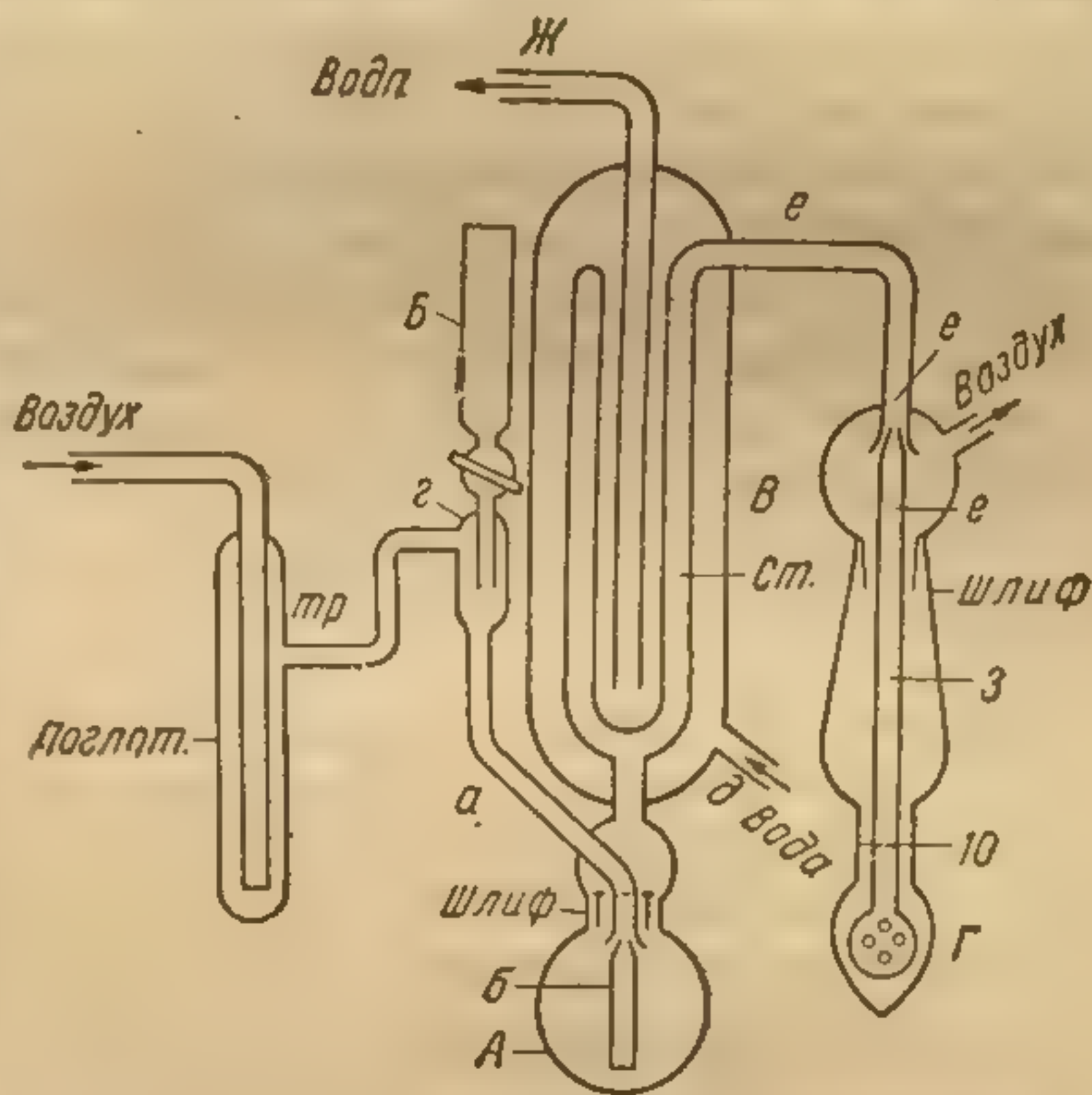


Рис. 66. Схема аппарата для определения молочной кислоты.



фтористого натрия, чтобы с кровью получился 1% раствор, — это предупреждает гликолиз. Осаждают белки по Фолину (стр. 156). К 10 см<sup>3</sup> и больше безбелкового фильтрата прибавляют  $\frac{1}{10}$  его объема сернокислой меди (11) и столько сухого гидрата окиси кальция (3), чтобы взвесь имела щелочную реакцию на лакмус; цвет взвеси должен быть чисто голубым; обычно достаточно около 2,5 г кальция. Взвесь оставляют стоять 30 минут, повторно взбалтывая, и центрифугируют. Отмеривают 5 см<sup>3</sup> прозрачной жидкости, что соответствует  $\frac{5}{11}$  см<sup>3</sup> крови.

При осаждении сернокислой медью и едким натром отмеривают в мерную колбочку емкостью в 50 см<sup>3</sup> 5 см<sup>3</sup> сернокислой меди (1а) и 5 см<sup>3</sup> едкого натра (2а) и спускают туда 1 см<sup>3</sup> только что взятой или смешанной с фтористым натрием крови (см. выше); пипетку несколько раз ополаскивают водой, пока она на-глаз не будет свободна от следов крови, воду приливают в ту же колбу. Смешивают осторожным наклоном колбы, стараясь избежать образования пены; доводят водой до метки; оставляют стоять 30 минут, центрифугируют. Ко всему количеству прозрачной жидкости (обычно около 45 см<sup>3</sup>) прибавляют около 2,5 г гидрата окиси кальция (3), взбалтывают, через 30 минут центрифугируют; из прозрачной жидкости берут 35 см<sup>3</sup> или больше, что соответствует 35/50 см<sup>3</sup> крови. В виде взвеси опыт можно отложить, если нужно, до следующего дня, плотно закрыв колбу и оставив ее в холодильнике.

Точно отмеренные 5 см<sup>3</sup> или больше фильтрата (или 35 см<sup>3</sup>, или больше по второму способу) переносят в перегонную колбу, прибавляют 4—5 см<sup>3</sup> двумолярной фосфорной кислоты (5), 10 или 5 см<sup>3</sup> 10% раствора сернокислого марганца (6) или 5 см<sup>3</sup> раствора сернокислого марганца (6а), немного талька (12) и столько воды, чтобы довести общий объем до 80—100 см<sup>3</sup>. Собирают весь аппарат. В приемник наливают 7 см<sup>3</sup> бисульфита (8). Жидкость в колбе нагревают до кипения, пропускают не слишком сильный ток воздуха и прибавляют из делительной воронки окисляющую жидкость (4) по каплям, не быстрее 1—2 капель в секунду, пока жидкость в колбе не окрасится в розовый цвет и не начнет выделяться осадок. Окраска должна сохраняться не менее 10 минут; если обесцвечивание произойдет раньше, то нужно прибавить еще окисляющей жидкости. Перегонку продолжают 20 минут, начиная с момента окончания окисления. Отставляют горелку, закрывают кран водоструйного насоса, освобождают пробку приемника и тщательно ополаскивают цилиндр. К жидкости в приемнике прибавляют из бюретки п/10 раствор иода (10) в присутствии 1 см<sup>3</sup> крахмала (9) до ясно синего цвета, избыток иода удаляют (жидкость обесцвечивают) прибавлением 1 капли п/10 раствора гипосульфита (13) и прибавляют по каплям п/500 раствор иода до появления еще заметного слабоголубого окрашивания. Освобождают бисульфит, связанный с альдегидом, прибавляя небольшое количество двууглекислого натрия в порошке или в виде насыщенного раствора (7), титруют сульфит п/100 раствором иода до появления голубого окрашивания; если возникают сомнения в конечном моменте титрования, прибавляют еще немного соды. Голубое окрашивание должно держаться не менее 15 секунд.

Желательно ставить определение в двух параллельных опытах; необходимо в тот же день ставить слепой опыт.

Вычисление. Количество кубических сантиметров п/100 иода, ушедшее на титрование после прибавления двууглекислой соды, минус контроль, помноженное на титр иода и на 0,45 (1 см<sup>3</sup> п/100 раствора иода соответствует 0,45 мг п/100 молочной кислоты), указывает на содержание молочной кислоты в миллиграммах во взятом для определения



фильтрате. 13 см<sup>3</sup> освобожденного от углеводов фильтрата соответствуют 1 см<sup>3</sup> крови.

Источники ошибок. Для получения сравнимых между собой данных необходимо брать кровь не раньше чем после получасового полного физического покоя. Кровь может содержать летучие вещества — ацетон и ацетоуксусную кислоту, которые изменяют результат титрования. Если имеется подозрение на наличие в крови кетоновых тел, производят предварительную перегонку в другой приемник, без цилиндра с бусами, не подвергая жидкость окислению. Подогревают перегонную колбу до кипения, пропускают ток воздуха в течение 5 минут, удаляют приемник, заменяя его новым, и производят определение, как было описано.

В воздухе лаборатории могут содержаться вещества, связывающие бисульфит; это выясняется путем слепого опыта. Желательно не хранить в помещении, где производится определение молочной кислоты, веществ, содержащих ацетон, и т. п. Если это невозможно, нужно пропускать воздух через поглотительный прибор с 5% раствором бисульфита.

Фильтровальная бумага даже хорошего сорта обычно содержит вещества, связывающие бисульфит. Поэтому следует всюду, начиная с удаления белков, заменять фильтрование центрифугированием. Если это невозможно или если и после центрифугирования приходится фильтровать, как это бывает после удаления углеводов гидратом окиси кальция, пользуются стеклянной ватой. Для этого берут бокалообразную воронку, кладут на дно стеклянную бусинку и сверху стеклянную вату; стержень воронки входит в бюхнеровскую склянку; фильтрование производится с отсасыванием.

3) **Диагностическое значение.** У здоровых взятая без застоя венозная кровь содержит 10—12 мг% молочной кислоты. Повышенное содержание молочной кислоты находят и у здоровых после физического напряжения; у нетренированных повышение значительно больше (до 140 мг%), чем у тренированных (до 50—60 мг%). Из патологических состояний с гиперлактацидемией протекают все заболевания, сопровождающиеся одышкой; она отмечается при болезнях легких (пневмониях), пороках сердца; некоторое повышение имеется при анемиях. При беременности также отмечается повышенное количество молочной кислоты, особенно при токсикозах.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ

С уточнением процесса расщепления углеводов в практику клинической лаборатории входят анализы, могущие установить нарушения в углеводном обмене. К такому виду анализов принадлежит количественное определение пировиноградной кислоты.

**Принцип.** Пировиноградная кислота в щелочном растворе в присутствии салицилового альдегида образует окрашенный продукт, годный для колориметрирования (фотометрии).

**Реактивы:** 1) трихлоруксусная кислота 6% (держат на холоду); 2) раствор КОН; к 100 г КОН добавляют 60 см<sup>3</sup> воды, осторожно помешивают, иногда выпадает осадок; для реакции берут раствор сверху; 3) раствор салицилового альдегида; 2 мл салицилового альдегида разводят в 98 мл этилового спирта; раствор стойкий; может храниться несколько месяцев.

**Ход определения.** 3 см<sup>3</sup> оксалатной крови (только что взятой) осаждают равным объемом трихлоруксусной кислоты (1), взбалтывают и оставляют стоять на 5 минут. Переносят в центрифужку и быстро

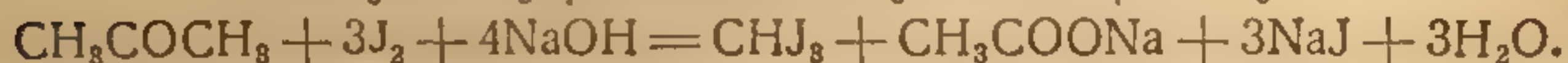
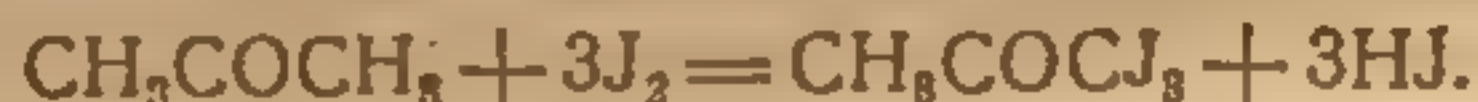


центрифугируют. Набирают 1 см<sup>3</sup> прозрачного бесцветного центрифугата, прибавляют 1 см<sup>3</sup> раствора КОН (2) и 0,5 см<sup>3</sup> салицилового альдегида (3), хорошо смешивают и ставят на 10 минут в водяную баню при температуре 37°. Развивается оранжевая окраска, напоминающая цвет креатинина с пикратом; затем быстро охлаждают и колориметрируют или фотометрируют (фильтр S47). Одновременно готовят стандарт из пировиноградной кислоты или, проще, из ее натронной соли (растворы нестойки). Обычно концентрация 0,2 мг в см<sup>3</sup> (раствор готовят из расчета по молекулярному весу соли). Можно колориметрировать с искусственным стандартом из раствора двуххромовокислого калия.

**Диагностическое значение.** В норме кровь человека содержит довольно постоянно  $0,85 \pm 0,35$  мг% пировиноградной кислоты. Количество ее увеличивается при недостатке карбоксилазы, активной группой которой является витамин В<sub>1</sub>. Это увеличение может быть вызвано недостатком витамина В<sub>1</sub> в пище (экзогенный авитаминоз) или при усиленном его потреблении (эндогенный авитаминоз) (см. определение витамина В<sub>1</sub>).

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЦЕТОНОВЫХ ТЕЛ И β-ОКСИМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ

**Принцип.** Из фильтрата, полученного после удаления из крови белков и углеводов, перегоняют сначала ацетон, имеющийся налицо (преформированный), и ацетон, образующийся из ацетоуксусной кислоты; затем, после окисления, ацетон, образующийся из β-оксимасляной кислоты. В дистилляте ацетон определяют иодометрически—прибавлением щелочи и иода ацетон связывают в виде иодоформа:



Избыточный иод освобождают прибавлением кислоты и определяют титрованием гипосульфитом. Из приведенной формулы видно, что для образования иодоформа нужны 6 атомов иода и они соответствуют 1 молекуле ацетона; молекулярный вес ацетона 58,05; отсюда 1 см<sup>3</sup> потраченного п/10 раствора гипосульфита соответствует:

$$\frac{58,05}{6 \times 100 \times 1000} = 0,0967 \text{ мг ацетона.}$$

Однако при перегонке выход ацетона соответствует 94,4%, и чтобы вычислить полностью ацетон, необходимо данную величину привести к 100

$$\frac{0,0967 \text{ мг} \times 100}{94,4} = 0,1024 \text{ мг;}$$

при перечислении на β-оксимасляную кислоту коэффициент получается 0,25 мг соответственно ее молекулярному весу.

**Реактивы:** 1) реактивы для осаждения белков по Фолину (новый способ); 2) хромовая смесь (двуххромовокислый калий + концентрированная серная кислота 20 см<sup>3</sup> + дистиллированная вода до 100 см<sup>3</sup>); 3) 1% раствор крахмала; 4) п/100 раствор иода; 5) п/100 раствор гипосульфита; 6) разведенная серная кислота: в мерную колбу емкостью 500 см<sup>3</sup> наливают 300 см<sup>3</sup> воды, приливают 125 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты и по охлаждении доливают водой до метки; 7) 10% раствор NaOH.



Аппарат для перегонки состоит из колбы емкостью около 700 см<sup>3</sup>, помещенной в жестяной конус для кипячения, холодильника длиной около 60 см и служащей приемником эрленмейеровской колбы емкостью в 300 см<sup>3</sup>. Через пробку перегонной колбы проходит, кроме трубки, соединяющей ее с холодильником, длинный стержень от делительной воронки емкостью в 100 см<sup>3</sup>. Резиновые пробки должны быть самого высокого качества. В пробке приемника тоже имеется два отверстия; через первое входит стержень от холодильника, погруженный в жидкость; через второе вставляют короткую трубку, согнутую под прямым углом для водоструйного насоса.

Ход определения. Осаждение белков по новому способу Фолина: 20 см<sup>3</sup> фильтрата (равно 2 см<sup>3</sup> цельной крови) вводят в перегонную колбу, туда прибавляют 5 см<sup>3</sup> серной кислоты при помешивании (6). В приемник вводят 20 см<sup>3</sup> воды, 2 см<sup>3</sup> п/100 иода и 2 см<sup>3</sup> раствора NaOH (7). Проверяют все соединения аппарата, нагревают колбу на слабом огне. Через аппарат время от времени пропускают осторожно слабую струю воздуха при открытом кране делительной воронки. Время от времени через воронку прибавляют воды в перегонную колбу. Дистилляция продолжается 25—30 минут. По ее окончании приемник отделяют от аппарата, конец холодильника быстро обмывают водой и оставляют приемник закупоренным в течение 15 минут для окончания реакции образования иодоформа. Этим заканчивается перегонка преформированного ацетона и ацетона из ацетоуксусной кислоты.

Для определения β-оксимасляной кислоты ее переводят окислением в ацетон: для этого продолжают перегонку уже в новый приемник, в который вводят те же реактивы и в том же количестве, как и в первый приемник. В перегонную колбу во время перегонки (отодвинув горелку) через определенные промежутки времени 4 раза вводят хромовую смесь (2), всего 10 см<sup>3</sup>. Перегонка продолжается 30 минут, после чего приемник снимают и оставляют его стоять 15 минут.

Титрование. В приемники вводят по 2 см<sup>3</sup> и больше серной кислоты (6) до ясно кислой реакции (что видно по пожелтению раствора). Через 2 минуты добавляют крахмал (раствор синее) и титруют гипосульфитом (5) до полного обесцвечивания.

Вычисления. 1 см<sup>3</sup> п/100 раствора иода соответствует 0,1024 мг общего ацетона. Потраченное количество кубических миллиметров раствора умножают на это число и для получения содержания ацетона в 100 см<sup>3</sup> крови умножают на 50 (исходя из того расчета, что для перегонки было взято 20 см<sup>3</sup> фильтрата, равные 2 см<sup>3</sup> цельной крови).

Второй приемник титруется также п/100 раствором гипосульфита и из расчета перевода оксимасляной кислоты в ацетон: каждый 1 см<sup>3</sup> его соответствует 0,25 мг оксимасляной кислоты, т. е. количество кубических сантиметров раствора умножают на 0,25 мг.

Для клинических целей обычно достаточно определить сразу все количество ацетона из всех источников, не выделяя ацетона из β-оксимасляной кислоты. В таком случае можно определить весь ацетон в результате только одной перегонки: к фильтрату крови, приготовленному, как было указано, и перенесенному в перегонную колбу в том же количестве и с теми же добавлениями, сразу, как только начинается кипение, добавляют по каплям хромовосерную кислоту; перегонку продолжают 25 минут. 1 см<sup>3</sup> п/100 иода соответствует 0,22 мг ацетоновых тел, выраженных в виде ацетоуксусной кислоты, или 0,25 мг, выраженных в виде β-оксимасляной кислоты.

Необходимо каждый раз ставить слепой опыт. Количество гипосульфита, потраченное при титровании пустого опыта, должно быть только



на 0,1 — 0,15 меньше количества, пошедшего на титрование 2 см<sup>3</sup> п/100 нода; бо́льшая разница указывает на загрязнение аппарата или воздуха.

Диагностическое значение. Нормальная кровь содержит 1,5 — 2,5 мг% ацетона и ацетоуксусной кислоты, а также около 12 мг% β-оксимасляной кислоты. Количество ацетоновых тел увеличено при голодании (вследствие недостатка углеводов, нужных для сгорания жиров), во время беременности, при наркозе и в первую очередь при сахарной болезни. Во время комы находили до 350 мг % ацетоновых тел.

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ

Клинициста может интересовать как общее количество белка сыворотки, так и изменения в количественных соотношениях его фракций: глобулинов, альбуминов и фибриногена. Существует несколько способов

определения белков сыворотки. Наиболее точным и простым способом следует считать рефрактометрический.

1) **Рефрактометрический способ.** Принцип. В основе рефрактометрии (refringo — преломляю) лежит способность сред различно преломлять проходящие через них лучи света.

Как известно, луч света, переходя из одной среды в другую, меняет направление, преломляется. Отношение синуса угла падения к синусу угла преломления  $\frac{\sin i}{\sin r} = n$  (рефракция) носит название показателя (коэффициента) преломления. Степень рефракции раствора обусловлена количеством, величиной, физическим состоянием растворенных в нем частиц и температурой внешней среды. В биологических жидкостях (сыворотка, тканевые соки, транссудаты, экссудаты) величина рефракции

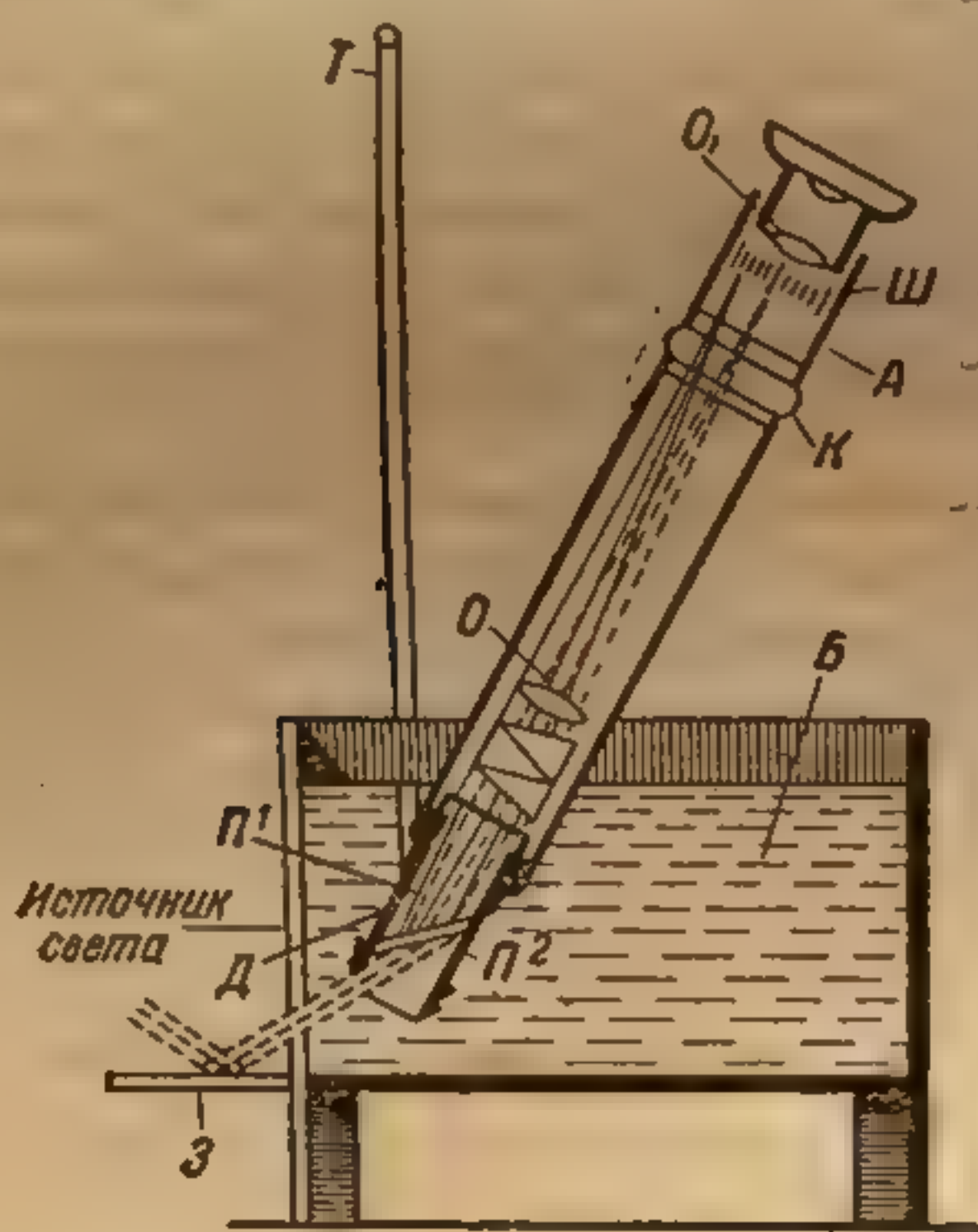


Рис. 67. Схема рефрактометра.

зависит в первую очередь от количества белков; солям и другим составным частям принадлежит меньшая роль. Практически коэффициент преломления сыворотки довольно точно свидетельствует о количественном содержании в нем белка.

Для определения показателя преломления служат особые приборы — рефрактометры. Наиболее распространенным является погружной рефрактометр Пульфриха.

а) **Описание прибора.** Рефрактометр (рис. 67, 68) состоит из зрительной трубы А, снабженной объективом О и окуляром О<sub>1</sub> и оканчивающейся призмами  $n_1$  и  $n_2$ . В приборе имеется шкала Ш с делениями, с помощью которой можно отсчитывать положение границы между освещенной и темной частью поля зрения. Кроме того, рефрактометр снабжен компенсатором К. Вращая компенсатор, можно установить резкую границу между освещенной и темной частью поля зрения.

Определение рефракции производят в особом резервуаре — бане (Б) со стеклом в стенке при строго определенной температуре (17,5°), для чего при приборе имеется особо точный термометр Т (рис. 67) и зеркало, направляющее луч (З).



б) Определение общего количества белка. В баню наливают воду и, добавляя теплой и холодной воды, доводят ее температуру до  $17,5^{\circ}$ .

При рефрактометрии больших количеств вещества (экссудаты и др.) объект помещают в особый стаканчик, который устанавливают в штатив бани, и погружают в него чистую и сухую призму рефрактометра (макроопределение).

При малых количествах исследуемой жидкости применяют дополнительные призмы, позволяющие проводить определение в капле жидкости (микроопределение). В последнем случае, держа рефрактометр горизонтально, на основную призму  $n_1$  наносят каплю сыворотки и прикрывают ее дополнительной призмой  $n_2$ , которая укрепляется с помощью особой насадки  $D$ . Затем нижний конец рефрактометра, на который надета на-

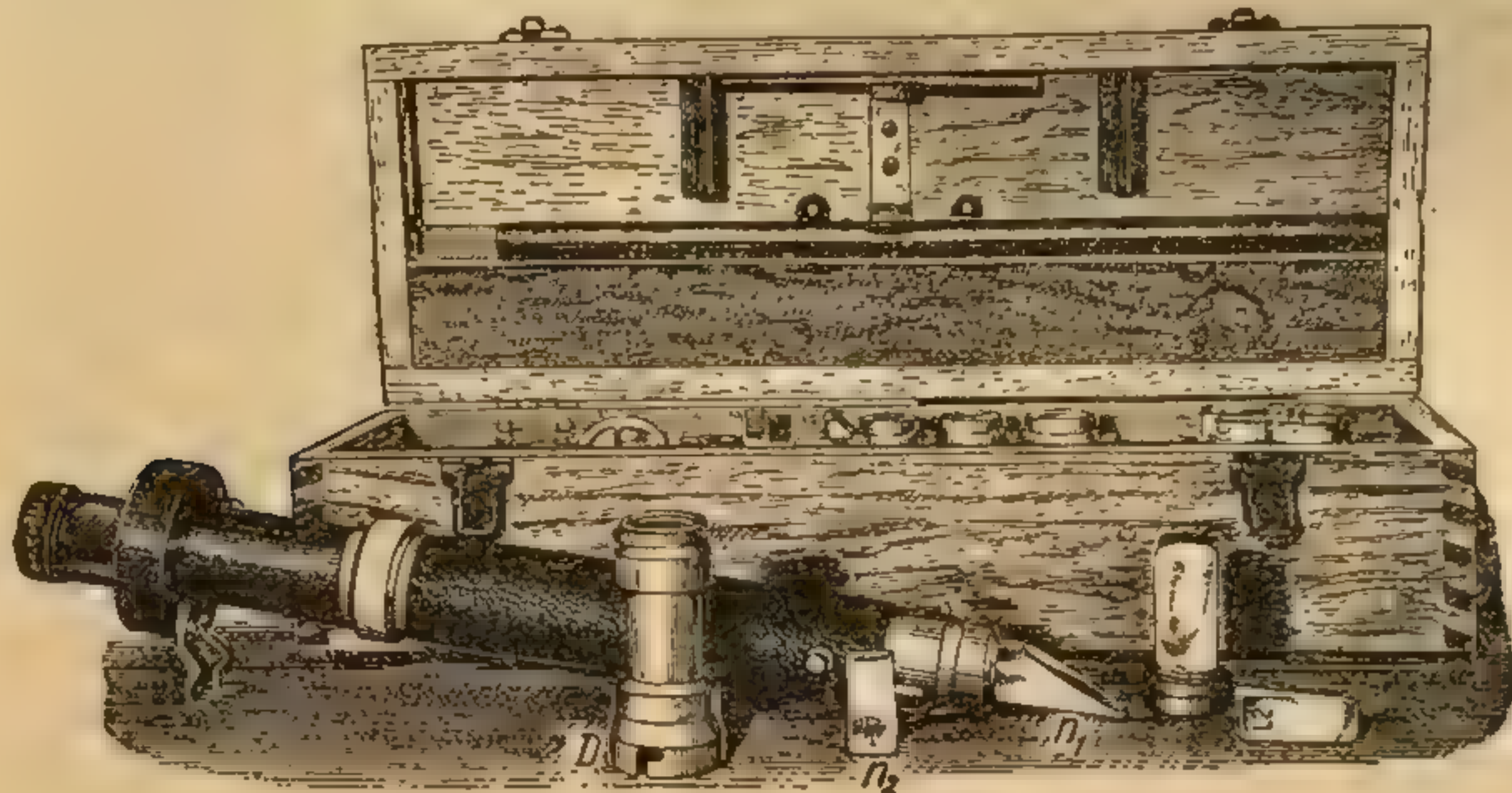


Рис. 68. Общий вид рефрактометра.

садка, непосредственно погружают в воду бани (рис. 67). Зеркало бани  $Z$  ставят так, чтобы оно отражало свет в призму. Через 10 минут после погружения в баню, т. е. после уравнивания температуры, приступают к отсчету, для чего, вращая компенсатор  $K$ , добиваются получения резкой границы между освещенной и темной частью поля зрения. Вращая микрометрический винт, передвигают шкалу так, чтобы одно из ее делений совпало с линией раздела. Отсчитывают целые деления по шкале и десятые доли на микрометрическом винте. Полученные результаты перечисляют по таблице, специально составленной на основании экспериментальных определений для белка сыворотки крови, экссудатов и транссудатов (№ 28).

Расчет. Таблица построена следующим образом. Первый вертикальный столбец дает величины показателя отсчета шкалы, второй — содержимое белка в процентах для сыворотки крови, третий — интерполяционные таблицы для учета десятых долей деления при расчете процентного содержания белка, четвертый — отсчеты по шкале и пятый — содержимое белка в процентах для экссудатов и транссудатов.

Например, при определении белка сыворотки найдено, что линия раздела совпала с 51-м делением по шкале и 7-м делением на микрометрическом винте, т. е. отсчет равен 51,7.

Тогда по таблице: 51-е деление соответствует 6,34%;

Одно деление (разница между делениями 51 и 52) = 0,21.

По интерполяционной таблице: при разнице  $0,21 - 0,7$  деления = 0,15.

Следовательно, 51,7 деления соответствует количеству белка (в процентах):  $6,34 + 0,15 = 6,49$ .



Таблица 28

*Пересчет показаний рефрактометра на процент белка*

Сыворотка крови			Экссудаты и трансудат	
отсчет на шкале	белок в %	вычисление десятых долей	отсчет на шкале	белок в %
25	0,63	<div>Разница 0,20</div> <div>Десятые доли</div> <div>1 0,02</div> <div>2 0,04</div> <div>3 0,06</div> <div>4 0,08</div> <div>5 0,10</div> <div>6 0,12</div> <div>7 0,14</div> <div>8 0,16</div> <div>9 0,18</div>	25	0,77
26	0,86		26	0,97
27	1,08		27	1,18
28	1,30		28	1,38
29	1,52		29	1,59
30	1,74		30	1,80
31	1,96		31	2,01
32	2,18		32	2,21
33	2,40		33	2,42
34	2,62	<div>Разница 0,21</div> <div>Десятые доли</div> <div>1 0,02</div> <div>2 0,04</div> <div>3 0,06</div> <div>4 0,08</div> <div>5 0,11</div> <div>6 0,13</div> <div>7 0,15</div> <div>8 0,17</div> <div>9 0,19</div>	34	2,62
35	2,84		35	2,83
36	3,06		36	3,04
37	3,28		37	3,24
38	3,50		38	3,45
39	3,72		39	3,65
40	3,94		40	3,86
41	4,16		41	4,07
42	4,38		42	4,27
43	4,60	<div>Разница 0,23</div> <div>Десятые доли</div> <div>1 0,02</div> <div>2 0,04</div> <div>3 0,07</div> <div>4 0,09</div> <div>5 0,11</div> <div>6 0,13</div> <div>7 0,15</div> <div>8 0,17</div> <div>9 0,20</div>	43	4,48
44	4,81		44	4,68
45	5,03		45	4,89
46	5,25		46	5,10
47	5,47		47	5,30
48	5,68		48	5,50
49	5,90		49	5,70
50	6,12		50	5,90
51	6,34		51	6,11
52	6,55		52	6,31
53	6,77		53	6,51
54	6,98		54	6,71
55	7,20		55	6,91
56	7,42		56	7,12
57	7,63		57	7,32
58	7,85		58	7,52
59	8,06		59	7,72
60	8,28		60	7,92
61	8,49		61	8,12
62	8,71		62	8,32
63	8,92		63	8,52
64	9,14		64	8,72
65	9,35		65	8,92
66	9,57		66	9,12
67	9,78		67	9,32
68	9,99		68	9,52
69	10,20		69	9,72
70	10,41		70	9,91

в) **Определение белковых фракций.** При помощи рефрактометра можно определять не только общий белок сыворотки, но и отдельно его фракции — альбумины и глобулины, а также количество небелковых тел. Но для этого к рефрактометру должен быть приложен комплект других призм, как основной, так и добавочный. Призма № 1 дает возможность определять показатель преломления ( $n_D$ ) растворов в пределах от 1,325 до 1,367. Призма № 2 служит для определения жид-



Таблица 29

Пересчет делений шкалы рефрактометра на показатель преломлений для призмы № 1 при определении веществ с малым углом преломления

Деление шкалы	Показатель преломления nD	Вычисление десятичных долей	Деление шкалы nD	Показатель преломления
1	2775	Разница 39	41	134313
2	2814	1 3,9	42	4350
3	2854	2 7,8	43	4388
4	2893	3 11,7	44	4426
5	2932	4 15,6	45	4463
6	2971	5 19,5	46	4500
7	3010	6 23,4	47	4537
8	3049	7 27,3	48	4575
9	3037	8 31,2	49	4612
10	3126	9 35,1	50	4650
11	3165	Разница 38	51	4687
12	3204	1 3,8	52	4724
13	3242	2 7,6	53	4761
14	3281	3 11,4	54	4798
15	3320	4 15,2	55	4836
16	3358	5 19,0	56	4873
17	3397	6 22,8	57	4910
18	3435	7 26,6	58	4947
19	3474	8 30,4	59	4984
20	3513	9 34,2	60	5021
21	3551	Разница 37	61	5058
22	3590	1 3,7	62	5095
23	3628	2 7,4	63	5132
24	3667	3 11,1	64	5169
25	3705	4 14,8	65	5205
26	3743	5 18,5	66	5242
27	3781	6 22,2	67	5279
28	3820	7 25,9	68	5316
29	3858	8 29,6	69	5352
30	3896	9 33,3	70	5388
31	3934	Разница 36	71	5425
32	3972	1 3,6	72	5461
33	4010	2 7,2	73	5497
34	4048	2 10,8	74	5533
35	4036	4 14,4	75	5569
36	4124	5 18,0	76	5605
37	4162	6 21,6	77	5642
38	4199	7 25,2	78	5678
39	4234	8 28,8	79	5714
40	4275	9 32,4	80	5750

костей, показатель преломления которых находится между 1366 и 1396; к этой основной призме должна быть приложена и соответствующая дополнительная призма. Пересчет делений шкалы на показатель преломления (nD) производится по табл. 29 и 30.

Для производства определения по этой методике необходимы следующие реактивы: 1) n/25 уксусная кислота, которая готовится так: 4 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты разводятся водой до 1,750 см<sup>3</sup>; раствор надо хранить в хорошо закрытой склянке; 2) насыщенный раствор сернокислого аммония; для его приготовления чистая соль (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> растворяется в избытке в горячей воде и в горячем виде фильтруется через фильтровальную бумагу. Рефракционный показатель этих растворов в разведении, нужном для опыта, должен обязательно контролироваться при каждом



Таблица 30

Пересчет делений шкалы рефрактометра на показатель преломления для призм  
№ 2 при определении веществ с большим углом преломления

Деление шкалы	Показатель преломления nD	Вычисление десятых долей	Деление шкалы	Показатель преломления nD
10	136927	Разница 33	21	137279
11	6960		22	7311
12	6992	1 3,3	23	7347
13	7024	2 6,6	24	7375
14	7056	3 9,9	25	7406
15	7088	4 13,2	26	7438
16	7120	5 16,5	27	7470
17	7152	6 19,8	28	7502
18	7184	7 23,1	29	7534
19	7216	8 26,4	30	7566
20	7247	9 29,7	31	7598
		Разница 32	32	7630
		1 3,2	33	7662
		2 6,4	34	7694
		3 9,6	35	7725
		4 12,8	36	7756
		5 16,0	37	7787
		6 19,2	38	7818
		7 22,4	39	7849
		8 25,6	40	7830
		9 28,8		
		Разница 31		
		1 3,1		
		2 6,2		
		3 9,3		
		4 12,4		
		5 15,5		
		6 18,6		
		7 21,7		
		8 24,8		
		9 27,9		

определении. Реакция раствора должна быть слабощелочной, для чего туда добавляют несколько капель аммиака.

Производство реакции. Определение небелковых тел. В пробирку (видалевскую или центрифужку) отмеривают 1 см<sup>3</sup> сыворотки и туда же наливают 1 см<sup>3</sup> п/25 уксусной кислоты (1). Смесь тщательно взбалтывают, закупоривают хорошо пригнанной пробкой и пробирку помещают в холодную водяную баню, на дно которой положена вата, так чтобы уровень воды в бане несколько превышал уровень жидкости в пробирке. Затем баня медленно нагревается до кипения и кипятится 2—5 минут. После выпадения белка пробирка охлаждается. Сгусток белка отделяется от ее стенки стеклянной палочкой, и пробирка, хорошо закрытая пробкой, центрифугируется. Прозрачный центрифугат, содержащий небелковые тела сыворотки и п/50 уксусную кислоту (п/25, разведенную в 2 раза сывороткой), подвергается рефрактометрическому исследованию при помощи призмы № 1.

Небелковые тела вычисляются по формуле: nD небелковых тел равняется: (nD лишенной белков сыворотки минус nD п/50 уксусной кислоты) × 2. Небелковые тела сыворотки имеют в среднем коэффициент преломления 0,00160; для того чтобы вычислить процентное содержание небелковых тел, нужно найденную по формуле величину разделить на 0,00160.



Определение альбуминов. Для осаждения глобулинов в пробирку вводят 1 см<sup>3</sup> насыщенного раствора сернокислого аммония. При этом нужно тщательно следить за тем, чтобы в пипетку не попали кристаллики и чтобы на наружной поверхности пипетки не оставалось капель жидкости. Той же пипеткой, промытой и высушенной, приливают в пробирку такое же количество сыворотки. Пробирку закрывают пробкой, и содержимое ее тщательно взбалтывают, а затем центрифугируют в течение 1 часа. Во время центрифугирования пробирка должна оставаться закупоренной пробкой. Полученная прозрачная жидкость рефрактометрируется с помощью призмы № 2. Расчет производится следующим образом.  $nD$  альбуминов = ( $nD$  полученной жидкости минус  $nD$  полунасыщенного раствора сернокислого аммония)  $\times 2$ , минус  $nD$  небелковых тел.

$nD$  полунасыщенного сернокислого аммония надо определять рефрактометрически обязательно при каждом отдельном опыте из свежеприготовленного раствора.

1% раствор альбумина имеет коэффициент преломления 0,00177. Поэтому для определения процентного содержания альбумина сыворотки нужно разделить найденную величину на 0,00177.

Определение глобулинов.  $nD$  глобулинов вычисляется следующим образом:  $nD$  глобулинов равняется  $nD$  сыворотки минус  $nD$  небелковых тел минус  $nD$  альбуминов минус  $nD$  дистиллированной воды.

1% раствор глобулина обладает показателем преломления 0,00229. Отсюда, чтобы вычислить процентное содержание глобулинов в сыворотке, нужно полученную величину разделить на 0,00229.

Пример вычисления процентного соотношения белковых фракций сыворотки крови

#### Измерения призмой № 1

	Деления шкалы	$nD$
1. Цельная сыворотка . . . . .	66,4	1,35257
2. Лишенная белков сыворотка . . . . .	18,7	1,33462
3. $n/50$ уксусная кислота . . . . .	15,3	1,33332
Измерения призмой № 2		
4. Полунасыщенный раствор сернокислого аммония . . . . .	13,6	1,37043
5. Полунасыщенная сернокислым аммонием сыворотка . . . . .	33,6	1,37681

#### Расчет

1. $nD$ лишенной белков сыворотки . . . . .	— 1,33462
$nD$ $n/50$ уксусной кислоты . . . . .	— 1,33332
	<u>0,00130</u>

$$0,00130 \times 2 = 0,0026$$

$$\text{Небелковые тела} = 0,0026 : 0,00160 = 1,63 \text{ г}\%$$

2. $nD$ полунасыщенного сернокислого аммония . . . . .	— 1,37681
$nD$ полунасыщенной сернокислым аммонием сыворотки . . . . .	— 1,37043
	<u>0,00638</u>

$$0,00638 \times 2 = 0,01276$$

$$0,01276 - 0,00260 \text{ (} nD \text{ небелковых тел)} = 0,01016$$

$$\text{Альбумины} = 0,01016 : 0,00177 = 5,68 \text{ г}\%$$

3. $nD$ цельной сыворотки . . . . .	1,35257
$nD$ дистиллированной воды . . . . .	1,33320
$nD$ (альбуминов + небелковых тел) . . . . .	0,01276
	<u>0,00661</u>

$$\text{Глобулины} = 0,00661 : 0,00229 = 2,89 \text{ г}\%$$

4. Глобулина . . . . .	+ 2,89 г%
Альбумина . . . . .	+ 5,68 г%
Общего белка . . . . .	<u>8,57 г%</u>

Точность рефрактометрического определения белка сыворотки равна 0,3%, точность же определения альбуминов — 7%. Среднее арифметическое расхождение двух параллельных опытов для сыворотки равно 0,018;



для альбуминов же оно равно 0,2. Такая неточность методики объясняется тем, что для осаждения глобулинов приходится пользоваться полунасыщенным раствором сернокислого аммония, имеющим большой рефрактометрический показатель. Поэтому малейшие погрешности в работе, например, неточность отмеривания, испарение жидкости и т. п., сильно отражаются на результате.

Для уменьшения ошибки при определении коэффициента преломления альбуминов необходимо точно соблюдать известные правила: 1) отмеривание сыворотки и раствора сернокислого аммония необходимо производить одной и той же хорошо промытой и высушенной пипеткой, чтобы разведение сыворотки было точно 1:1; 2) насыщенный раствор  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  предварительно надо продержать 15—20 минут в ванне с температурой  $17,5^\circ$ ; 3) при отмеривании его надо следить, чтобы в пипетку не попадали кристаллики, так как это резко изменяет показания; поэтому лучше сначала осторожно отсосать раствор в колбочку, а затем разливать его в пробирки с сывороткой; 4) сыворотка и раствор  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  тщательно смешиваются в центрифужной пробирке (для этой цели лучше употреблять более широкие пробирки, позволяющие жидкостям хорошо смешиваться при встряхивании) и немедленно плотно закрываются резиновой пробкой. На необходимость этого указывают следующие опыты: центрифугирование смеси сыворотки с раствором  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  в течение 20—40 минут при открытой пробирке увеличивает рефрактометрический показатель центрифугата в среднем на  $43\%$  по сравнению с параллельными определениями, производимыми в жидкости из закрытых пробирок. Дальнейшее удлинение срока центрифугирования жидкости, закрытой пробкой, не изменяет ее рефрактометрического показателя.

При определении рефрактометрического показателя следует выждать 15—20 минут для выравнивания температуры испытуемой жидкости с температурой ванны.

Если в лаборатории не имеется рефрактометра, белки сыворотки могут быть определены по методу Кьельдаля.

Сыворотка для этого определения разводится в 50 раз физиологическим раствором и для сжигания берется  $1\text{ см}^3$ . Дальнейшее определение см. «Определение азота». Полученное количество азота, умноженное на коэффициент 6,25, равно количеству общего белка. Альбумины определяются после осаждения глобулинов также по Кьельдалю. По вычитании их количества из общего белка получают глобулины.

Если в лаборатории имеется нефелометр, то можно определять белковые фракции при помощи этого аппарата.

**2) Нефелометрический способ.** Принцип. Нефелометрическое определение основано на измерении феномена Тиндаля. Если растворы, содержащие во взвешенном состоянии частицы нерастворенного вещества (коллоиды), освещать сбоку пучком сходящихся лучей, то ясно виден светящийся конус (феномен Тиндаля). Конус Тиндаля образуется вследствие рассеяния света мельчайшими частицами коллоида, находящимися в виде взвеси. Интенсивность светорассеяния для раствора одного и того же вещества при одинаковом характере падающего света и неизменяющемся размере частиц зависит только от числа частиц в единице объема, т. е. от весовой концентрации вещества.

Для сравнения интенсивности светорассеяния растворов пользуются особыми приборами — нефелометрами. Устройство нефелометра основано на следующем: если два мутных раствора налить в стаканчики и, освещая их сбоку, смотреть сверху, то часть света, рассеянного частицами взвеси, попадает в глаз наблюдателя (рис. 69). Чем больше будет



частиц, рассеивающих свет, тем больше света попадает в глаз наблюдателя и тем светлее будет казаться раствор. Изменяя высоту освещенной части жидкости, можно достигнуть того, что растворы с различной концентрацией взвешенных частиц будут казаться одинаково ярко освещенными. Тогда имеем:

$$\frac{c_1}{c_2} = \frac{h_2}{h_1} \quad \text{или} \quad c_1 h_1 = c_2 h_2,$$

где  $h_1$  и  $h_2$  — высоты освещенной части жидкости,  $c_1$  и  $c_2$  — соответствующие концентрации растворов. Зная концентрацию одного из растворов и высоту освещенных частей жидкости, можно определить концентрацию второго раствора.

а) Описание прибора (рис. 70). Наиболее распространенным является нефелометр, схема устройства которого такова: в два стаканчика наливают растворы, подлежащие нефелометрированию, — стандартный раствор, концентрация которого известна, и исследуемый раствор, концентрацию которого хотят определить, или же сравнивают относительную мутность двух неизвестных растворов; стаканчики устанавливают в гнезде прибора и освещают сбоку. С помощью особых винтов можно изменить высоту освещенной части стаканчиков, изменяя ширину щели, которая отмечается с помощью шкалы. Свет, рассеянный взве-

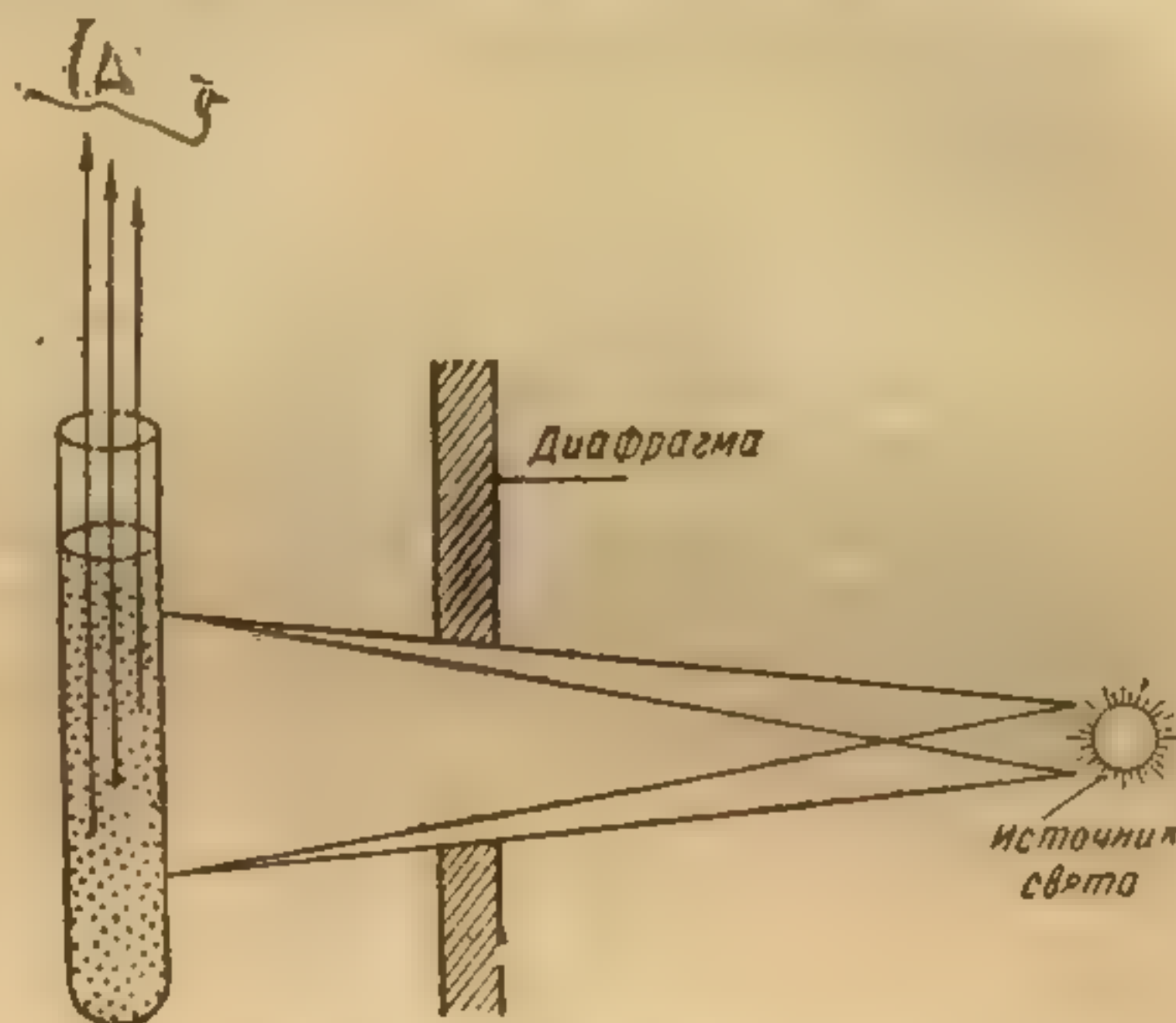


Рис. 69. Схема нефелометра.

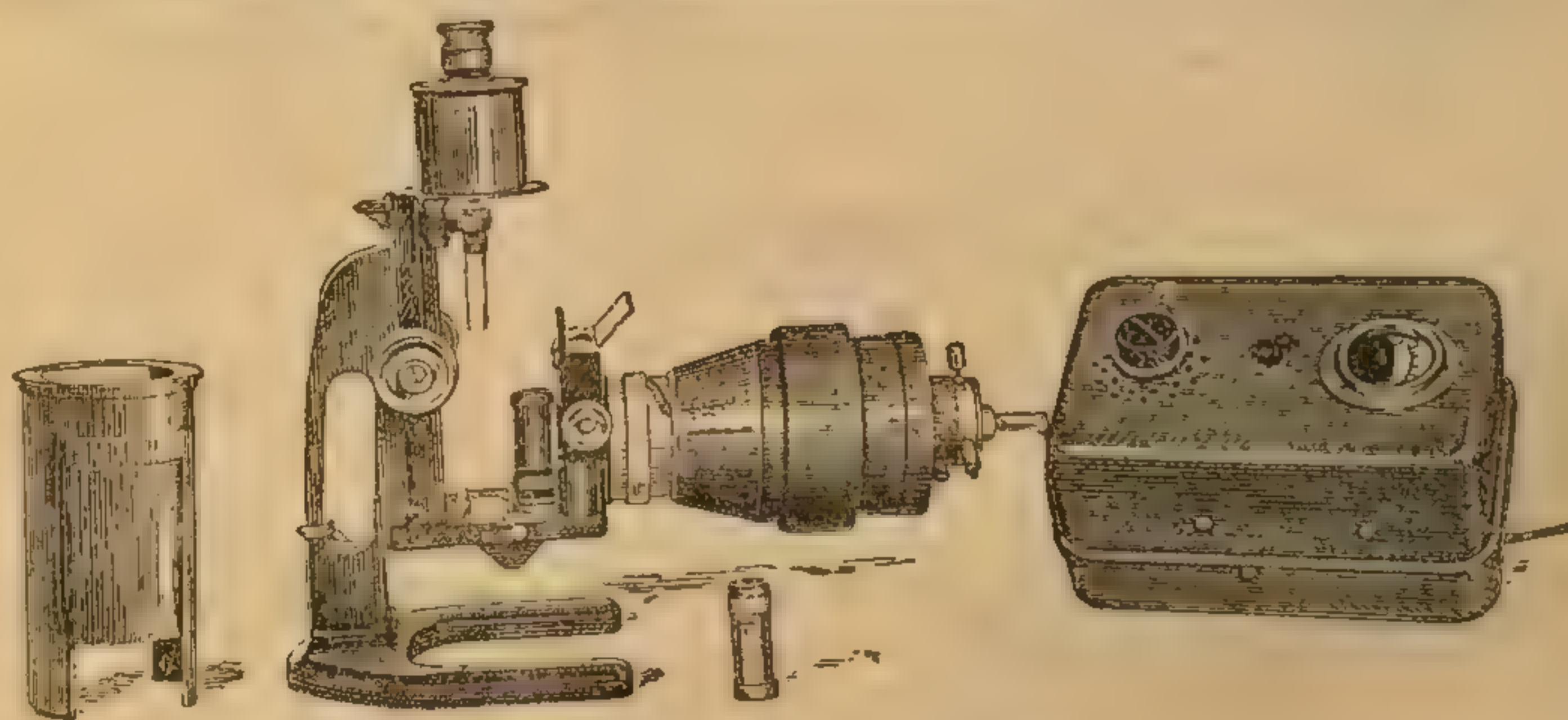


Рис. 70. Общий вид нефелометра.

шенными частицами, попадает в призмы с полным внутренним отражением, далее, в окуляр и, наконец, в глаз наблюдателя. Свет от каждой пробирки освещает только половину поля зрения. Меняя ширину щелей пробирки находят такое положение, когда оба раствора (оба поля зрения) кажутся одинаково ярко освещенными. Наблюдение лучше проводить в затемненной комнате. По шкале определяют ширину щелей и приступают к расчетам.



6) Определение альбуминов и глобулинов. Реактивы: 1) сернокислый аммоний, насыщенный раствор 80 г  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  на 100 см<sup>3</sup> воды с рН, равным 6,5—6,8; 2) реактив для осаждения глобулинов: 1 часть насыщенного раствора сернокислого аммония (1) и 1 часть воды; 3) соляная кислота п/5; 4) реактив для осаждения глобулинов + альбуминов: 1 часть насыщенного раствора сернокислого аммония и 1 часть п/5 соляной кислоты.

Осаждая белки сыворотки полунасыщенным раствором сернокислого аммония в нейтральной среде, достигают осаждения глобулинов (муть от осажденных глобулинов —  $c_1$ ); проводя осаждение в кислой среде, осаждают и глобулины, и альбумины (муть от альбуминов и глобулинов —  $c_2$ ). Нефелометрируют полученные растворы и, зная общую концентрацию белков сыворотки (общая концентрация белков может быть определена рефрактометрически или по Кьельдалю), вычисляют концентрацию глобулинов по формуле:

$$c_1 h_1 = c_2 h_2,$$

откуда

$$c_1 \text{ (искомая концентрация)} = \frac{c_2 h_2}{h_1},$$

где  $h_1$  — показатель ширины щели при  $c_1$ , а  $h_2$  — при  $c_2$ .

Определив концентрацию глобулинов, легко вычислить и концентрацию альбуминов.

Ход определения. В эрленмейеровскую колбочку наливают 25 см<sup>3</sup> полунасыщенного раствора сернокислого аммония (2) и из микропипетки 0,1 см<sup>3</sup> сыворотки. Пипетку тщательно ополаскивают тем же раствором и жидкости перемешивают. Происходит осаждение глобулинов. Во вторую эрленмейеровскую колбочку наливают 50 см<sup>3</sup> кислого полунасыщенного раствора сернокислого аммония (4) и 0,1 см<sup>3</sup> сыворотки и перемешивают. Происходит осаждение альбуминов и глобулинов. Через 5 минут растворы нефелометрируют. Осаждение белков может быть проведено в мерных колбах на 25 и 50 см<sup>3</sup>.

Расчет. Так, в результате нефелометрического сравнения найдено:

$$\frac{(A + g) \text{ альбумины + глобулины}}{g \text{ глобулины}} = \frac{h_1}{h_2}.$$

Но  $(A + g)$  разведено в два раза больше, чем  $g$ . Поэтому соотношение в сыворотке будет:

$$\frac{A + g}{2g} = \frac{h_1}{h_2}.$$

Зная общую концентрацию белков, можно подсчитать концентрацию глобулинов:

$$g = \frac{(A + g)}{2} \cdot \frac{h_2}{h_1},$$

а отсюда и концентрацию альбуминов:

$$(A + g) - g = A.$$

Если общая концентрация белков сыворотки неизвестна, то можно вычислить только соотношение альбуминов и глобулинов в сыворотке, т. е. белковый коэффициент.

Так, в сыворотке:

$$\frac{(A + g)}{2g} = \frac{h_1}{h_2}.$$



Или, проведя математические преобразования, мы имеем:

$$\frac{A}{g} + 1 = 2 \frac{h_1}{h_2};$$

вычитая из обеих частей равенства по единице и сокращая, получаем:

$$\frac{A}{g} = 2 \frac{h_1}{h_2} - 1.$$

3) **Диагностическое значение.** Общий белок сыворотки равен 6,5 — 8,0%, альбумины 4,6 — 6,5%, глобулин 1,2 — 2,3%.  $\frac{A}{g} = 1,5 - 2$ .

Повышение количества глобулина наблюдается при злокачественных опухолях, нефрозах, при инфекции, пневмонии, беременности. Уменьшение белков сыворотки и особенно альбуминов обнаруживается при нефрозах, острых нефритах, ревматизме, а также при голодании. Обычно увеличение глобулинов и уменьшение альбуминов в сыворотке больных сопровождается ускорению реакции оседания эритроцитов.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНОГО АЗОТА

Способов определения азота предложено весьма много. Кроме сжигания и последующей перегонки по Кьельдалю, в которые тоже еще вносятся постоянно различные усовершенствования, предложено несколько способов с целью избежать процесса перегонки, во время которого возможна потеря аммиака (не говоря уже о затрате времени и относительной сложности и громоздкости аппаратуры, что тоже далеко не безразлично для клинических лабораторий). В этих способах образовавшийся после сжигания аммиак либо поглощается в специальном сосуде точно отмеренным количеством титрованной кислоты; либо вступает в реакцию (с реактивом Несслера), в результате которой образуется окрашенный раствор, пригодный для колориметрического определения; либо окисляется бромноватистой щелочью в щелочной среде с последующим иодометрическим определением избытка бромноватистой щелочи; либо из аммиака в результате обработки гипобромитом освобождается азот, объем которого можно измерить (см. «Определение мочевины»). Кьельдалевские способы вполне применимы к биологическим жидкостям, но требуют хорошей перегонной установки, которая не везде имеется. Способ с поглощением в замкнутом сосуде относительно несложен и дает очень хорошие результаты. Способ колориметрический Аселя менее точен, но запросам клиники он удовлетворяет; то же относится и к гипобромитному способу; оба они удобны в массовой работе.

Колбы, в которых производится сжигание, должны быть из огнеупорного стекла.

Выделяющиеся при сжигании — во второй фазе, после выпаривания воды — пары не только вызывают упорный кашель, но и портят стоящие

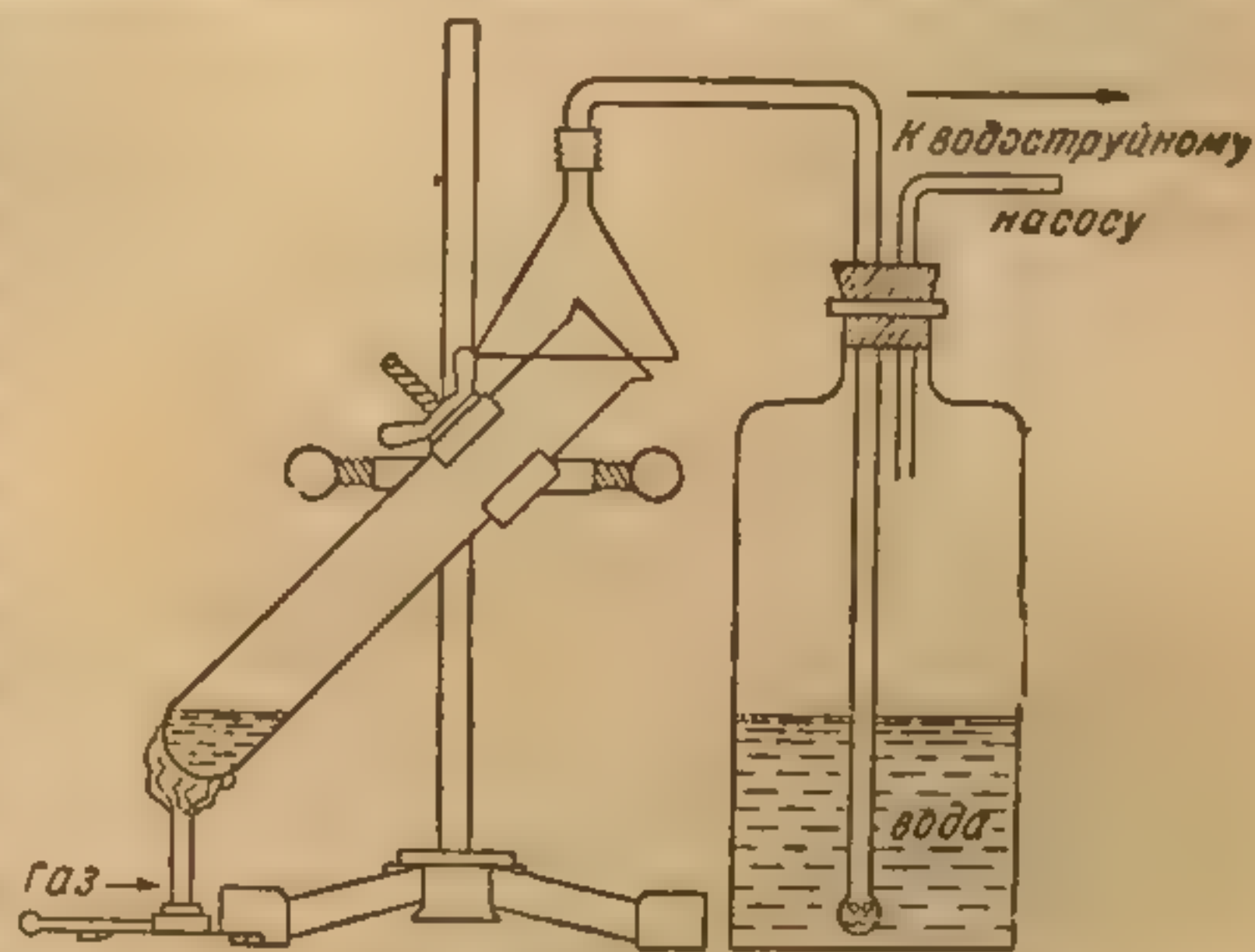


Рис. 71. Приспособление для удаления газов при сжигании.

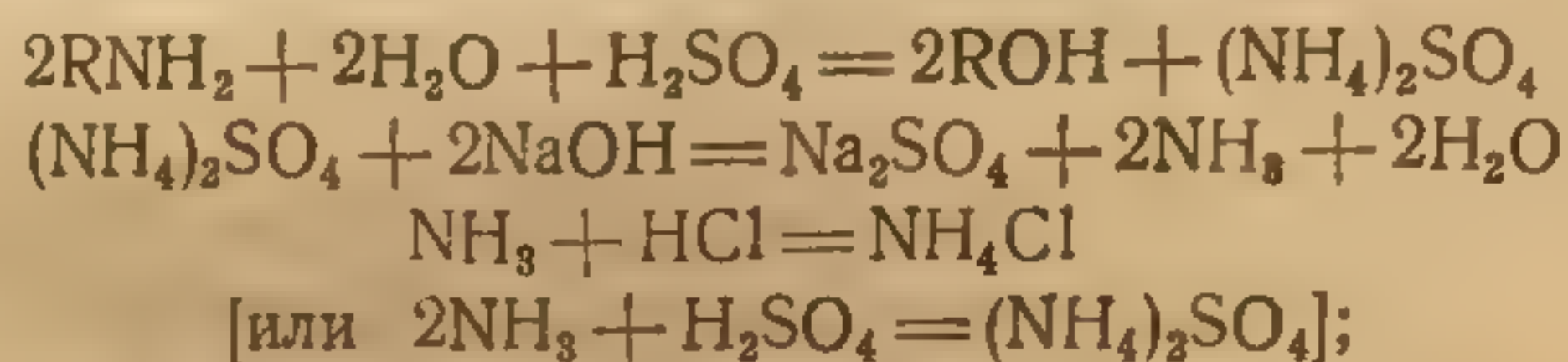


на полках реактивы. Сжигание поэтому рекомендуется производить в вытяжном шкафу; если это почему-либо затруднительно, то вставляют горло пробирки или колбы под воронку, конец которой соединен с водоструйным насосом. Когда пары начинают отделяться, пускают насос в ход — пары полностью удаляются (рис. 71).

Необходимо указать, что все исследования азота дают неправильный результат (слишком большое количество), если исследование производится в комнате, где воздух содержит много аммиака.

Под остаточным азотом понимают небелковый азот крови, т. е. азот, содержащийся в фильтрате после осаждения и удаления белков.

1) **Определение остаточного азота по Кьельдалю.** Принцип. Описанные ниже способы основаны на принципе Кьельдаля: азот, содержащийся в безбелковом фильтрате, сжиганием с серной кислотой переводят в аммиак; образовавшийся аммиак освобождают концентрированной щелочью и перегоняют в титрованный раствор кислоты:



избыток кислоты определяют титрованием едким натром или иодометрически; в последнем случае реакция протекает по формуле:



а) **Полумикроопределение.** Общие замечания. Осаждение белков производят по одному из способов, описанных в соответствующей главе (стр. 156). Фильтрат после осаждения фосфоровольфрамовой кислотой (по Фолину) сжигается несколько хуже других; лучше заменить вольфрамвокислый натрий молибденовокислым, как описано в разделе «Микроопределение» (см. ниже). Осаждение трихлоруксусной кислотой имеет то преимущество, что можно приготовить сразу большое количество фильтрата и определять в нем, кроме остаточного азота, также индикан и вещества, дающие ксантопротеиновую реакцию.

**Минерализующая смесь.** В качестве минерализующей смеси широко пользуются концентрированной серной кислотой с прибавлением в качестве катализатора сернокислой меди и сернокислого калия. На сжигание безбелкового фильтрата, соответствующего 1 см<sup>3</sup> крови, требуется приблизительно 2 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты и около 0,5 г сернокислого калия. Эту смесь иногда заменяют жидкостью, состоящей из фосфорной и серной кислоты и сернокислой меди. Сжигание с этой смесью протекает очень быстро. Если сжигание долго не заканчивается, прибавляют (лучше к еще горячему раствору, осторожно, по стенке) несколько капель пергидроля; когда реакция закончится, вновь выпаривают и прокаливают до появления белых паров. Равное количество пергидроля прибавляют и в слепой опыт.

**Реактивы:** 1) 20% раствор трихлоруксусной кислоты; 2) минерализующая смесь по Фолину: к 50 см<sup>3</sup> 5% раствора сернокислой меди прибавляют 300 см<sup>3</sup> концентрированной (85%) фосфорной кислоты (удельный вес 1,7) и 100 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты, хранившейся без доступа аммиака; рекомендуется также следующий способ приготовления этой смеси: к 300 см<sup>3</sup> фосфорной кислоты прибавляют 100 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты, смешение производят в цилиндре, который



затем плотно закрывают, чтобы предупредить поглощение аммиака; оставляют стоять около недели для осаждения сернокислого кальция; сливают прозрачную жидкость, приливают на каждые 100 см<sup>3</sup> 10 см<sup>3</sup> 6% раствора сернокислой меди; 3) 33% едкий натр; 4) метилрот (см. «Приготовление метилрота», стр. 140); 5) n/100 раствор серной (или соляной) кислоты; 6) n/100 раствор едкого натра. Титр растворов (5) и (6) при титровании с метилротом должен совпадать; в противном случае вычисляют фактор. Проверку титра производят не реже 1 раза в несколько дней и каждый раз, когда слепой опыт дает иной результат, чем обычно.

Аппарат для перегонки. Приводим описание простых приборов, которые легко собрать самому. Аппарат состоит в основном из перегон-

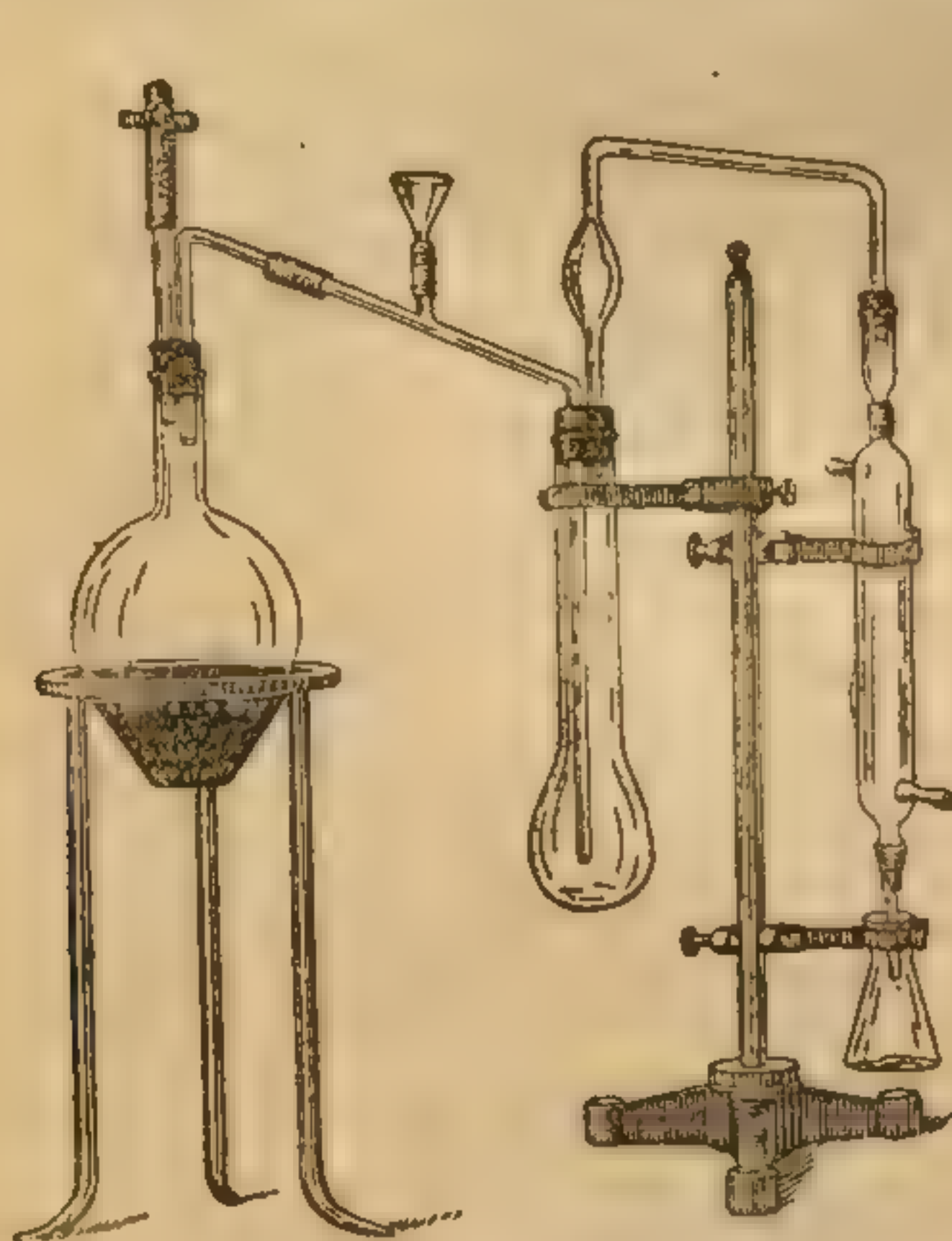


Рис. 72. Прибор для перегонки аммиака при определении количества азота по способу Кьельдаля.

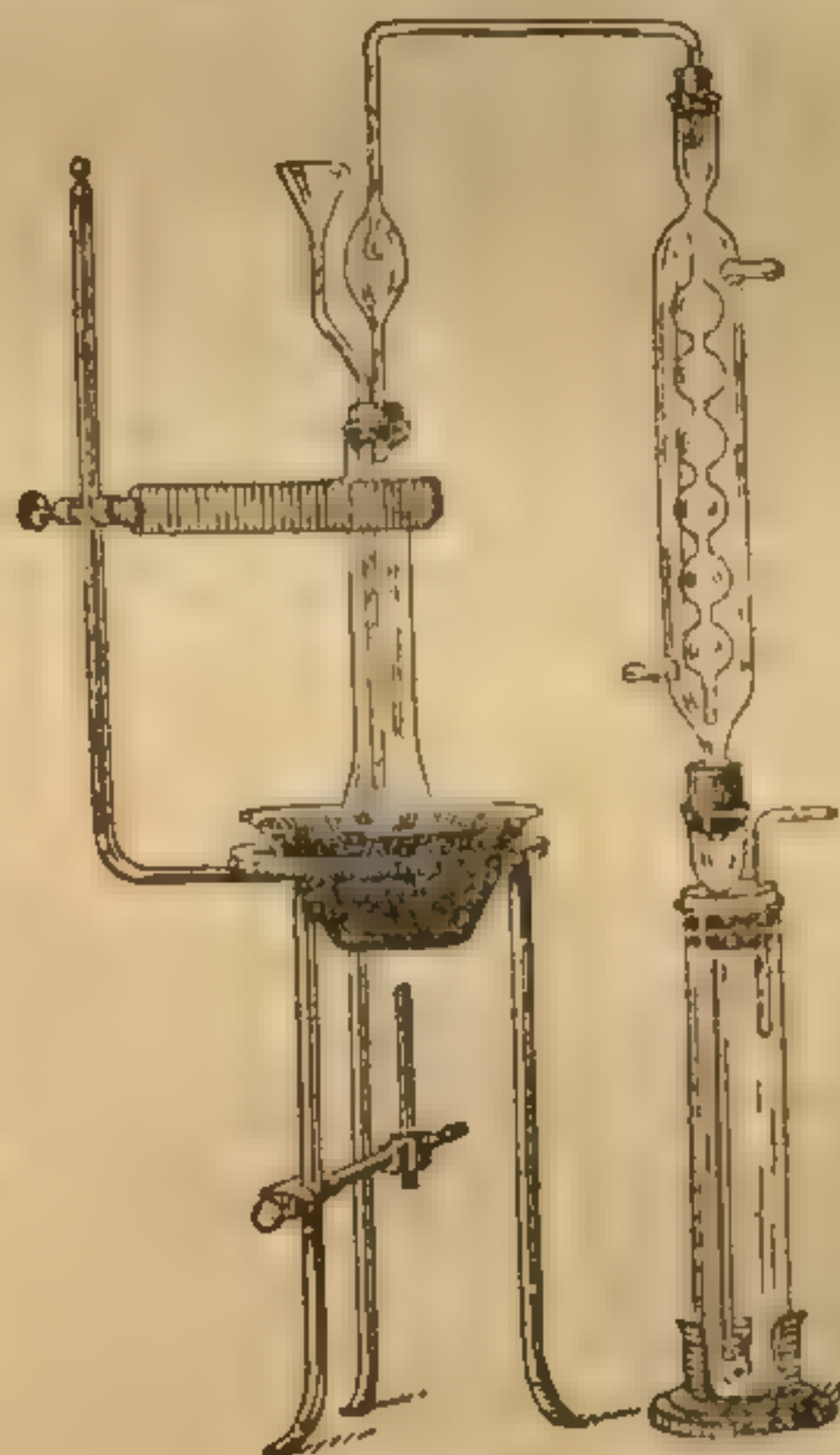


Рис. 73. То же, другая модель.

ной колбы, холодильника и приемника; в пробке перегонной колбы должно быть второе отверстие для воронки, через которую приливают едкий натр. Приемник должен иметь боковую трубку (или таковая вставляется через второе отверстие в пробке) для соединения с водоструйным насосом. Все части должны быть соединены между собой толстой каучуковой трубкой; лучше иметь аппарат, в котором все части припаяны одна к другой. Перегонную колбу нагревают на огне или паром, поступающим в нее из парообразователя (большой колбы с водой, в которой все время поддерживается кипение, рис. 72). Если нагревание производится паром, то во избежание просверливания в пробке перегонной колбы третьего отверстия воронку для едкого натра соединяют с трубкой, по которой проходит пар. В парообразователе прибавляют серную кислоту для поглощения аммиака из поступающего в него воздуха. На рис. 72 и 73 изображен тот и другой прибор.

Колбы, в которых производится сжигание, должны быть емкостью в 100 — 200 см<sup>3</sup>.

Ход определения. К 4 см<sup>3</sup> крови, плазмы или сыворотки прибавляют 8 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и 8 см<sup>3</sup> трихлоруксусной кислоты и фильтруют; 5 см<sup>3</sup> фильтрата (=1 см<sup>3</sup> исходного материала) переносят



в кьельдалевскую колбу, прибавляют 1 см<sup>3</sup> минерализующей смеси (2); нагревают на уменьшенном пламени до конца выпаривания воды и появления белых паров. Белые пары должны почти целиком оставаться внутри колбы: уменьшают пламя, устье колбы покрывают часовым стеклом или вставляют в него небольшую воронку и сжигают, укрепив колбу так, чтобы дно ее только касалось верхушки пламени. Сжигание закончено, когда жидкость в колбе стала бесцветной или голубоватой; первоначальный зеленоватый оттенок должен исчезнуть.

Когда сжигание закончено, снимают колбу, дают ей остывать не более 1 1/2 — 2 минут, иначе получится плотный осадок, в дальнейшем плохо растворяющийся. Прибавляют по стенке воду, ополаскивая ею стенки горлышка и воронку; если нужно, слегка нагревают, все время взбалтывая, до полного смешивания. В приемник отмеривают 10 см<sup>3</sup> п/100 серной кислоты (5), приливают 1—2 капли метилро́та (4) и соединяют отдельные части аппарата между собой и приемник с водоструйным насосом. Если нагревание производится посредством пара, то вода в парообразователе к этому времени должна уже кипеть. Когда аппарат собран, начинают пропускать воздух и впускают в перегонную колбу столько 33% едкого натра (3), чтобы жидкость из почти бесцветной стала темнобурой или темно-синей; такая перемена цвета указывает на то, что достигнута щелочная реакция; перегонку продолжают 10 минут, отставляют горелку, закрывают кран водоструйного насоса, открывают пробку приемника, тщательно ополаскивают конец холодильника, который был погружен в кислоту. Заменяют приемник новым, содержащим такое же или меньшее количество п/100 раствора серной кислоты; продолжают перегонку еще несколько минут, чтобы убедиться, что первая перегонка была доведена до конца. Титруют первый приемник едким натром (6) до перехода красного цвета в канареечножелтый, не изменяющийся в течение 30 секунд. Одновременно ставят слепой опыт.

**Вычисление.** 1 см<sup>3</sup> п/100 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> или NaOH соответствует 0,14 мг азота. Разность между количеством отмеренной в приемник серной кислоты и количеством потраченных при титровании кубических сантиметров едкого натра (за вычетом того, что пошло на титрование слепого опыта), умноженная на 0,14 мг, равна количеству остаточного азота во взятом для исследования количестве крови (1 см<sup>3</sup>); умножая на 100, получаем количество азота в миллиграмм-процентах.

**Пример.** Было взято в приемник 10 см<sup>3</sup> п/100 серной кислоты, на титрование было потрачено 6,3 см<sup>3</sup> п/100 едкого натра с фактором 1,002, т. е. 6,4 см<sup>3</sup> едкого натра. Количество остаточного азота равно 0,14 мг  $\times (10 - 6,4) \times 100 = 14 \text{ мг} \times 3,6 = 50,4 \text{ мг}\%$ .

Если желательно титровать не щелочью, а гипосульфитом натрия, что дает несколько более точные результаты, то требуются следующие реактивы: взамен п/100 серной кислоты (5) — 20 см<sup>3</sup> п/10 соляной кислоты отмеривают в мерную колбу емкостью в 100 см<sup>3</sup>, приливают 10 см<sup>3</sup> 4% раствора иодноватокислого калия и доливают до метки водой; раствор стоек довольно долгое время; взамен п/100 едкого натра (6) — п/100 раствор гипосульфита натрия; кроме того, иодистый калий в кристаллах и 1% раствор крахмала. В приемник отмеривают 5 см<sup>3</sup> соляноиодистого раствора (5); по окончании перегонки прибавляют кристаллик иодистого калия, титруют гипосульфитом до соломенножелтого цвета, прибавляют несколько капель крахмала и титруют до полного обесцвечивания.

**Вычисление,** как в первом случае: 1 см<sup>3</sup> п/100 гипосульфита соответствует 0,14 мг азота.



б) Микроопределение. Тот же принцип можно применить и для определения количества остаточного азота в 0,1 — 0,2 см<sup>3</sup> крови; соответственно уменьшается только количество всех реактивов. Минерализующая смесь более слабая; в мерную колбу емкостью в 250 см<sup>3</sup> наливают около 50 см<sup>3</sup> воды и приливают 15 см<sup>3</sup> 85% фосфорной кислоты, 10 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты и 5 см<sup>3</sup> 5% раствора сернокислой меди (в указанном порядке); по охлаждении доводят водой до метки. Для сжигания достаточно 1 см<sup>3</sup> этой смеси. Но при микроопределении отрицательные стороны как фолиновского способа осаждения белков (в применении к данному случаю), так и его минерализующей смеси сказывается еще резче; поэтому при наличии соответствующих реактивов лучше видоизменять эти два момента, как указано ниже.

Реактивы: 1) для осаждения белков готовят отдельно 10% раствор химически чистого (для анализа) молибденовокислого натрия; в мерную колбу емкостью в 500 см<sup>3</sup> вносят 10 см<sup>3</sup> этого раствора и 6,5 г сернокислого калия, растворяют в воде и доводят водой до метки; 2) в мерную колбу емкостью в 300 см<sup>3</sup> наливают около 200 см<sup>3</sup> воды, отмеривают туда же 40 см<sup>3</sup> нормального раствора серной кислоты и по охлаждении доводят водой до метки; 3) для минерализации пользуются разведенной серной кислотой: в мерную колбу емкостью в 500 см<sup>3</sup> наливают около 300 см<sup>3</sup> воды, приливают 65 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты и по охлаждении доводят водой до метки. Остальные растворы те же, что и в предыдущем способе, но в приемник достаточно налить 2 или 3 см<sup>3</sup> кислоты.

Ход определения. В центрифужную пробирку отмеривают 4 см<sup>3</sup> молибденовокислого натрия (1), вносят микропипеткой 0,1 см<sup>3</sup> крови, выдувают в раствор и тщательно прополаскивают им микропипетку, смешивают, оставляют стоять 10 минут (можно и несколько часов, если это почему-либо удобно). Прибавляют 1 см<sup>3</sup> серной кислоты (2), тщательно смешивают; центрифугируют 5 минут. Сливают жидкость в другую пробирку и отмеривают из нее для сжигания 4 см<sup>3</sup> в колбу или пробирку из тугоплавкого стекла. Прибавляют 1 см<sup>3</sup> серной кислоты (3) и нагревают на небольшом пламени. Когда появляются белые пары, пламя уменьшают и продолжают сжигание еще 1—2 минуты. Дают остыть, прибавляют несколько кубических сантиметров воды, переносят количественно (повторно ополаскивая небольшими порциями воды) в колбу перегонного аппарата и продолжают определение, как было описано в предыдущем способе. При вычислении исходят из того, что для определения было взято  $\frac{0,1 \times 4}{5}$  см<sup>3</sup> крови. Полученную при титровании величину (после вычета слепого опыта) нужно, следовательно, умножить на  $\frac{5}{4}$ , чтобы получить количество остаточного азота в 0,1 см<sup>3</sup> крови, и на 1 000, чтобы дать ответ в мг %.

в) Микроопределение азота в специальном аппарате. Принцип определения и реактивы те же, что при определении азота по способу Кьельдаля, а перегонка производится в специальном аппарате (рис. 74).

Описание аппарата. Аппарат состоит из парообразующей колбы, в пробке которой проделаны два отверстия. В одно из них вставлена длинная стеклянная трубка, доходящая почти до дна колбы. На верхнем конце трубки имеется воронка Б, которая служит для наполнения колбы водой; вторая стеклянная трубка короткая; нижний конец ее только немного выступает ниже пробки в верхнем отделе колбы, а верхний соединен при помощи резиновой трубки с конденсатором пара 2. На резиновую трубку надет зажим С. Конденсатор пара имеет цилиндрическую форму;



в его верхнем отделе имеется пробка с отверстием для соединения с парообразователем; нижний конец конденсатора вытянут и заканчивается трубкой, куда надевается резиновый шланг с зажимом *Д*; в верхней части конденсатора имеется отводная трубка (3) для подачи пара в перегонный аппарат. Перегонный аппарат и конденсатор соединены между собой тройником, к третьему свободному концу которого присоединена воронка *А* и зажим *а*. Перегонный аппарат представляет колбу вытянутой формы, которая от перешейки заключена как бы в стеклянную муфту; между ее стенками имеется безвоздушное пространство для уменьшения охлаждения. Внутри колбы проходит впаянная в ее верхнюю часть стеклянная трубка с загну-

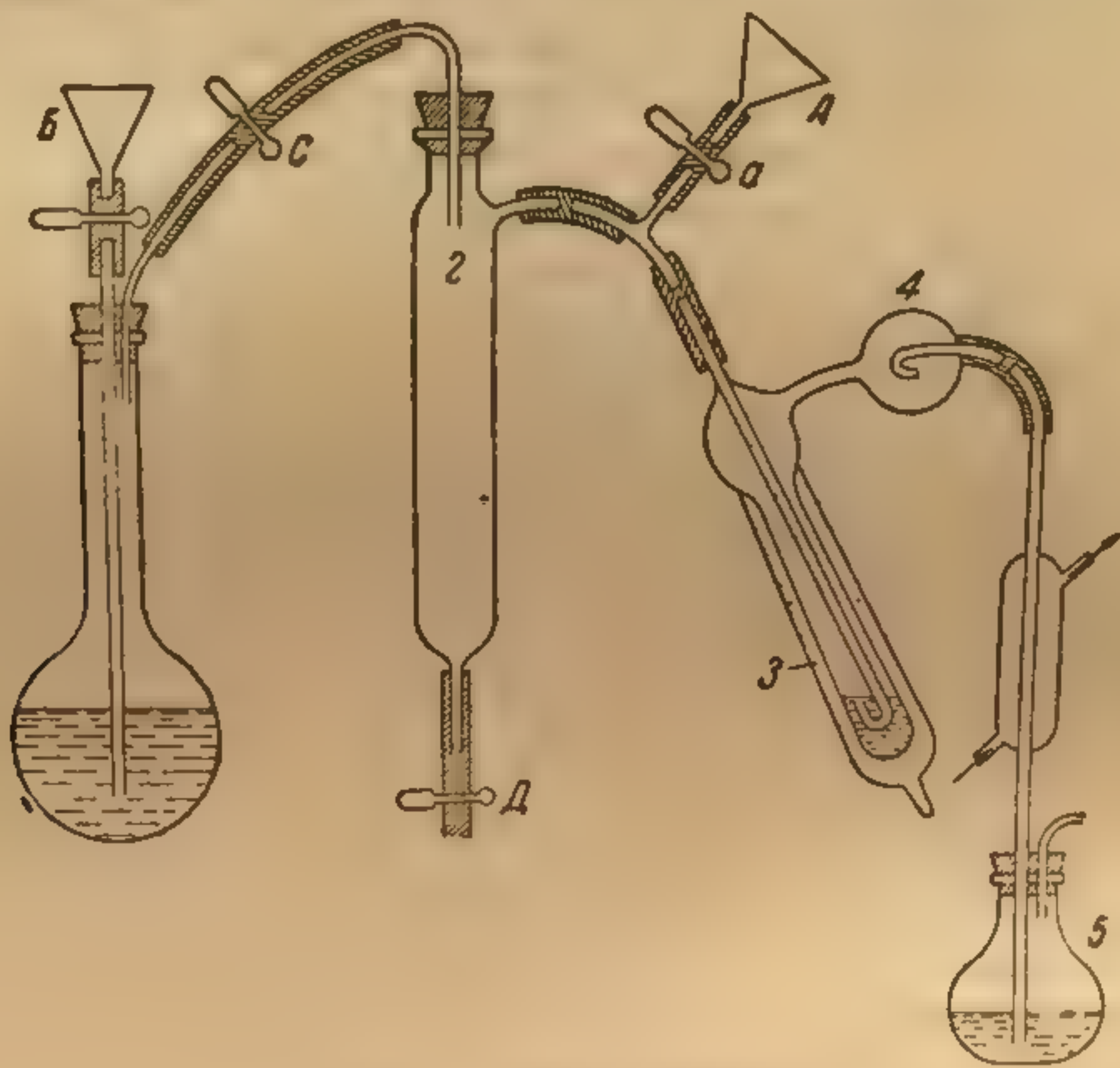


Рис. 74. Схема прибора.

тым нижним концом, доходящая до дна, по которой поступает пар. От верхней части колбы отходит отводная трубка с дефлегматором; она окружена холодильником и соединяется с приемником 5.

Рекомендуется пользоваться приемником с пробкой и отводной трубкой для водоструйного насоса (легкое разряжение).

Части прибора могут быть сделаны на шлифах.

Ход определения. Прежде всего в приемник (5) наливают необходимый раствор серной кислоты определенного титра с индикатором. Затем после нагревания парообразователя минерализованное вещество осторожно переносят через воронку *А* в перегонную колбу, обмывая несколько раз пробирку или колбу, в которой сжигалось вещество, водой; через воронку прибавляют щелочь и начинают перегонку. Через 3—5 минут перегонку заканчивают, приемник отнимают, обмывают кончик трубки дистиллированной водой и титруют, как в предыдущем методе. Расчет тот же.

Очистка перегонной колбы. По окончании перегонки плотно закрывается зажим *С*, горелка от парообразователя удаляется, и все содержимое перегонной колбы перебрасывается в конденсатор пара. Отработанный материал из конденсатора удаляется открыванием зажима *Д*.

При этом способе перегонка проходит очень быстро, и если через 5 минут после снятия приемника поставить новый приемник с кислотой, аммиак больше не отгоняется.



г) Микроопределение азота без перегонки. Очень удобен и точен способ определения всех входящих в состав крови веществ, определение которых после той или иной обработки сводится к определению аммиака; этот способ может быть использован и для научных работ.

Принцип. Летучее вещество — в данном случае аммиак — вследствие простой диффузии газов поступает из одной камеры в другую, где он поглощается соответствующей абсорбирующей жидкостью.

Аппарат состоит из плоской стеклянной чашечки (маленькой чашки Петри) с толстыми стенками; внутри этой чашки имеется вторая чашка, образуемая стеклянным кольцом, поднимающимся ото дна чашки, и идущая параллельно ее боковой стенке. Высота этого кольца — стенка внутренней камеры — соответствует приблизительно половине высоты наружной стенки. Все размеры обозначены на рис. 75. Стекло, из которого сделана чашка, не должно отдавать щелочи. Во время течения химической реакции чашка покрыта стеклянной пластинкой, на нижней поверхности которой имеется круговой желобок; диаметр этого круга равен диаметру чашки, край которой должен входить в желобок; ширина и глубина желобка должны, следовательно, соответствовать ширине стеклянной стенки. Край последней сделан шероховатым; желобок покрывается смазкой, благодаря чему сосудик оказывается герметически закрытым и потери аммиака не происходит.

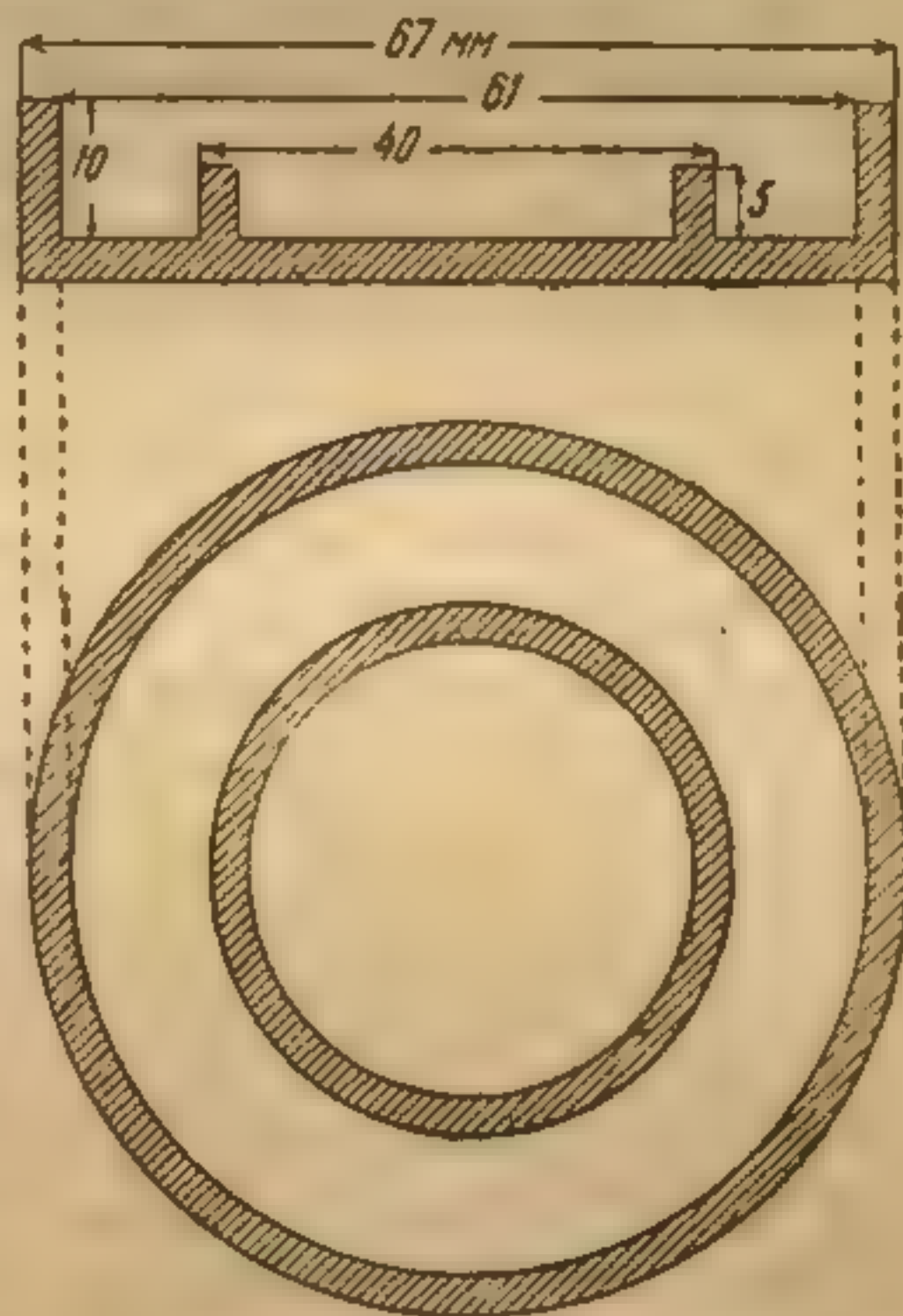


Рис. 75. Сосуд для поглощения аммиака.

По окончании работы сосудик должен быть тщательно вымыт: ошибки определения в большинстве случаев обусловлены недостаточной чистотой внутренней камеры в отношении следов щелочи или кислоты. Чашечки сначала ополаскивают холодной водой под краном, затем моют в горячей воде (желательно тоже проточной), чтобы смыть всю смазку, после чего продолжают обливать горячей водой еще некоторое время. Затем ополаскивают чашечки дистиллированной водой, стряхивают насколько возможно воду и оставляют сохнуть на воздухе; снаружи их можно вытереть полотенцем, но внутренней поверхности, конечно, нельзя ничем касаться. Вместо высушивания можно также хранить чашечки в слабой ( $n/1000$ ) серной кислоте, что лучше всего гарантирует от следов щелочи. Полной сухости перед заполнением чашечки не требуется; достаточно снять более крупные капли фильтровальной бумагой.

Реактивы. Вода, служащая для приготовления реактивов, должна быть освобождена от углекислоты кипячением; во время остывания воды через пробку должна быть проведена трубка с натронной известью, чтобы при сокращении объема жидкости в колбу не втягивался воздух, содержащий углекислоту. 1)  $n/100$  раствор серной кислоты; 2)  $n/100$  раствор едкого натра; титры обоих растворов должны совпадать или же должен быть вычислен фактор; 3) приблизительно 33% раствор едкого натра; 4) индикатор для этой реакции выбирают наиболее чувствительный (например, смесь индикаторов, см. стр. 140). При выполнении точных определений его лучше добавлять в отмеренном, всегда в одном и том же, количестве. Целесообразно также при приготовлении  $n/100$  рас-



твора серной кислоты из нормального раствора прибавлять на каждые 100 см<sup>3</sup> изготавливаемого раствора 1 см<sup>3</sup> индикатора и уже после этого доводить до метки; таким образом, титр будет установлен в отношении серной кислоты, уже содержащей индикатор; 5) для минерализации служит концентрированная серная кислота; 6) мазь для смазывания желобка в крышке; если предполагается оставить сосудик во время реакции при комнатной температуре, то можно пользоваться вазелином; если же сосудик будет помещен в термостат (см. ниже), то рекомендуется приготовить смесь из 3 частей вазелина и 1 части парафина (точка плавления парафина и 55°).

**Ход определения.** Отмеренное количество (0,1 см<sup>3</sup>) безбелкового фильтрата (осаждение белка — см. предыдущий способ) сжигают в тугоплавкой пробирке или колбочке, прибавляя 0,5—0,8 см<sup>3</sup> серной кислоты (5), на небольшом пламени, как описано выше. Когда жидкость из зеленоватой станет голубоватой или бесцветной, дают остыть и ополаскивают шейку колбы несколькими каплями воды; объем жидкости в колбе не должен превышать 1—1,2 см<sup>3</sup>. Обычно делают 2 параллельных определения. Приступают к заполнению сосудика; во внутреннюю камеру отмеривают точно 1 см<sup>3</sup> кислоты (1), содержащей индикатор (4); во внешнюю камеру переносят жидкость, полученную после сжигания, и ополаскивают колбу небольшим количеством воды, прибавляя ее во внешнюю камеру. Общее количество жидкости в этой камере для сосудика указанных размеров не должно превышать 2 см<sup>3</sup>. Накрывают сосуд крышкой, заранее смазанной, и слегка сдвигают ее, чтобы образовалась небольшая щель. Через эту щель вводят кончик пипетки, в которую набран едкий натр (3); лучше пользоваться для этой цели пипеткой с двумя метками, чтобы не нужно было выдувать жидкость из пипетки, и срезать самый кончик пипетки, для того чтобы жидкость вытекала быстро и свободно. В результате прибавления едкого натра жидкость из резко кислой должна стать щелочной. Поскольку камеру можно держать открытой только самое короткое время, нужно сразу достичь желаемого результата. Для этой цели заранее определяют на таком же количестве серной кислоты, какое было взято для сжигания, сколько едкого натра требуется для ее нейтрализации, и берут небольшой избыток. Тотчас тщательно закрывают сосудик и осторожными вращательными движениями в течение 10—15 секунд смешивают жидкости во внешней камере. Оставляют стоять чашечку 6—8 часов при комнатной температуре или 4—5 часов в термостате при 38°. По истечении этого срока снимают крышку и титруют жидкость во внутренней камере  $n/100$  едким натром (2).

Вычисление производится, как в предыдущем способе.

**2) Микроопределение остаточного азота колориметрическим способом.** Принцип. Испытуемую жидкость сжигают в пробирке в присутствии серной кислоты, после чего прибавляют реактив Несслера, дающий с аммиаком желтое окрашивание. Интенсивность окрашивания сравнивают с тем, которое получается при смешении того же количества несслеровского реактива с определенным количеством стандартного раствора (т. е. раствора, содержащего определенное количество искомого вещества, в данном случае азота).

**Реактивы:** 1) концентрированная серная кислота. Чтобы предупредить поглощение аммиака, серную кислоту хранят в специальном флаконе, имеющем, кроме притертой пробки, притертый стеклянный колпачок. Если такого флакона нет, то наливают серную кислоту в обыкновенный флакон с притертой пробкой и ставят его в плоскую чашку,



в которую также налита серная кислота. На флакон опрокидывают стеклянный колпак (при малом размере флакона — стакан), края которого погружены в серную кислоту; 2) раствор едкого натра: 50 г NaOH с простой пробкой, облитой парафином; 3) реактив Несслера: в мерную колбу емкостью в 100 см<sup>3</sup> наливают дистиллированной воды до метки и в дальнейшем пользуются только этой водой. 10 г двуиодистой ртути (HgJ<sub>2</sub>) растирают в ступке с небольшим количеством (около 10 см<sup>3</sup>) воды (из колбы) и переливают смесь в склянку из темного стекла; ступку ополаскивают водой и сливают воду в ту же склянку; туда же прибавляют 5 г иодистого калия (KI). В оставшейся воде растворяют 20 г едкого натра и по охлаждении раствора переливают его в ту же склянку. В течение нескольких ближайших дней осаждается избыток ртутных солей, а над осадком отстаивается прозрачная светложелтая жидкость. Ее осторожно сливают в другую темную склянку с простой пробкой, которую предварительно опускают в расплавленный парафин, и быстро, до застывания последнего, плотно закрывают склянку. Реактив хранят в темноте. Вместо двуиодистой ртути можно брать металлическую. Отмеривают в колбу 150 г иодистого калия и 110 г иода, прибавляют 140—150 г металлической ртути и сильно непрерывно встряхивают в течение 7—15 минут или пока не растворится почти весь иод. Жидкость при этом сильно разогревается. Когда раствор начинает заметно бледнеть, но еще сохраняет красный цвет, начинают охлаждать под водопроводом, продолжая взбалтывать, пока красный цвет не исчезнет; обычно весь этот процесс продолжается не более 15 минут. Сливают жидкость с избытка ртути в другую колбу; несколько раз ополаскивают первую колбу и ртуть дистиллированной водой, приливают эту воду во вторую колбу; доводят объем жидкости до 2 л.

Полезно проверить степень щелочности приготовленного несслеровского реактива: при титровании нормальной соляной кислотой в присутствии фенолфталеина в качестве индикатора 20 см<sup>3</sup> нормальной соляной кислоты должны нейтрализоваться 11—11,5 см<sup>3</sup> несслеровского реактива; 4) стандартный раствор, содержащий 0,05 мг азота в 1 см<sup>3</sup> раствора: химически чистый сернокислый аммоний [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] высушивают в эксикаторе до постоянного веса, отвешивают на аналитических весах 235,7 мг и растворяют в 1 л дистиллированной воды или же отвешивают 190,64 мг высушенного таким же образом хлористого аммония (NH<sub>4</sub>Cl) и растворяют в 1 л дистиллированной воды; 5) фосфомolibденовый раствор для осаждения белков — см. стр. 156; 6) пергидроль.

Оборудование: 1) микропипетка емкостью в 0,2 см<sup>3</sup>; 2) пробирки для центрифуги; 3) пробирки (желательно из тугоплавкого стекла); 4) пипетки в 3 и 5 см<sup>3</sup>, градуированные на 0,1, и две пипетки в 1 см<sup>3</sup>, градуированные на 0,01; 5) микробюретка или колориметр Аутенрита.

Ход определения. Кровь набирают из укола в мякоть пальца микропипеткой вместимостью в 0,2 см<sup>3</sup>, выдувают в приготовленную заранее пробирку для центрифуги, содержащую 2,8 см<sup>3</sup> фосфомolibденовой кислоты (5), ополаскивают пипетку, тщательно взбалтывают жидкость и оставляют стоять 30 минут. Белок отделяют центрифугированием; прозрачную жидкость отсасывают, 1 см<sup>3</sup> жидкости переносят в пробирку из тугоплавкого стекла, прибавляют 0,05 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты и нагревают на слабом пламени. Сначала испаряется вода, после чего появляются тяжелые белые пары; жидкость



начинает темнеть, но к концу сжигания опять светлеет; сжигание закончено, когда жидкость вновь становится совершенно бесцветной. Параллельно производят во второй пробирке сжигание 0,05 см<sup>3</sup> серной кислоты; если серная кислота хорошего качества, то она не должна чернеть при сжигании. Пробирки для контроля и опыта должны иметь одинаковый диаметр.

Сжигание заканчивается быстрее, если к серной кислоте прибавить немного пергидроля; при этом можно пользоваться простыми пробирками, не прибегая к тугоплавким. Кроме того, здесь удастся избежать потери аммиака, которая иногда наблюдается при способе Аселя, вследствие очень малого количества серной кислоты, употребляемой для минерализации.

Пробирку, содержащую кровяной фильтрат и серную кислоту, нагревают сначала только до появления тяжелых белых паров, дают остыть, прибавляют 0,03 см<sup>3</sup> пергидроля и опять нагревают до появления белых паров; от этого момента нагревание продолжают еще 15 секунд (оптимум минерализации).

Совершенно аналогично обрабатывают контрольную пробирку, содержащую серную кислоту без испытуемого материала; важно, чтобы в нее было внесено ровно столько пергидроля, сколько в первую, так как сам пергидроль содержит немного азота.

По охлаждении обеих пробирок в них наливают по 10 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, прибавляют 0,3 см<sup>3</sup> раствора едкого натра (2), смешивают и приливают 0,5 см<sup>3</sup> реактива Несслера. Исследуемая жидкость при этом окрашивается в желтобурый цвет, а контрольная жидкость — в бледножелтый цвет, соответствующий окраске несслеровского реактива; более темное окрашивание жидкости в контрольной пробирке указывает на непригодность реактивов. Стандартный раствор сернокислого или хлористого аммония наливают в микробюретку и приливают по каплям в контрольную пробирку, пока цвет содержащейся в ней жидкости не сравняется с окраской испытуемой жидкости. Сравнивать пробирки нужно на белом фоне.

Вычисление. 1 см<sup>3</sup> стандартного раствора соответствует 0,05 мг азота. Вычислив количество азота в потраченных кубических сантиметрах стандартного раствора, перечисляют его на 100 см<sup>3</sup>. Если взятое количество крови (0,2 см<sup>3</sup>) было разведено до 3 см<sup>3</sup> (фосфорномолибденовой кислотой), а после центрифугирования для сжигания был употреблен 1 см<sup>3</sup> жидкости, то сожжено было  $\frac{0,2}{3}$  см<sup>3</sup> крови; зная, сколько азота содержится в этом количестве крови, нетрудно вычислить, сколько его имеется в 100 см<sup>3</sup>.

Так как сравнение степени окраски, несомненно, более точно, если оно производится в колориметре, то лучше пользоваться видоизменением этого способа, которое предложила Ю. М. Гефтер.

Клин колориметра Аутенрита наполняют раствором следующего состава: 1 см<sup>3</sup> 0,1% раствора двуххромовокислого калия смешивают с 3 см<sup>3</sup> 0,1% раствора азотнокислого кобальта. Клины калибруют указанным выше раствором хлористого (или сернокислого) аммония следующим образом: в ряд пробирок наливают из микробюретки 0,1, 0,15, 0,25, 0,3 см<sup>3</sup> и т. д. хлористого аммония, прибавляют по 0,05 серной кислоты, по 0,3 см<sup>3</sup> 50% раствора NaOH и по 0,5 см<sup>3</sup> реактива Несслера и доливают водой до 10 см<sup>3</sup>. Полученные растворы вносят по очереди в стаканчик колориметра, устанавливают одинаковую степень окрашивания и отмечают соответствующие цифры шкалы.



Полученные данные наносят на миллиметровую бумагу для составления кривой. Предварительно на ординате помечают на одинаковом расстоянии одно от другого (снизу вверх) 10, 20, 30... 100, что означает цифры шкалы; на абсциссе наносят, тоже на равном расстоянии одно от другого, разные, постепенно возрастающие количества азота. Так как при калибровании клина  $0,1 \text{ см}^3$  стандартного раствора содержит  $0,005 \text{ мг}$  азота,  $0,2 \text{ см}^3$  содержат  $0,01 \text{ мг}$  и т. д. до  $1 \text{ см}^3$ , соответствующего  $0,05 \text{ мг}$  азота, то на абсциссе и наносят эти цифры:  $0,005 \text{ мг}$ ,  $0,01 \text{ мг}$  и т. д.— до  $0,05 \text{ мг}$ . При смене реактивов калибровку следует проверить.

Пример. В пробирке содержится  $0,3 \text{ см}^3$  стандартного раствора, равные  $0,015 \text{ мг}$  азота; прибавляем реактивы в указанном количестве, разбавляем водой, смешиваем, наливаем в стаканчик колориметра и устанавливаем на одинаковую интенсивность окраски. Предположим, что на шкале при этом будет отмечена цифра 70. Направляемся от этой цифры вправо до пересечения с вертикальной чертой, соответствующей величине  $0,015 \text{ мг}$  на абсциссе; в месте пересечения ставим отметку.

Когда таким же образом обработаны и проколориметрированы все пробирки, то на миллиметровой бумаге получают ряд отметок; если определение было произведено тщательно, то все эти отметки оказываются лежащими на одной прямой, идущей слева направо и сверху вниз. Эти линии и составляют кривую, которой пользуются при работе с колориметром Аутенрита.

3) **Диагностическое значение.** При нормальных условиях в сыворотке (или крови) содержится от 20 до 40 мг % остаточного азота (некоторые колебания зависят также от способа осаждения белков). Это количество увеличивается при различных патологических состояниях, например, при лихорадке, острой желтой атрофии печени, далее, при состояниях, сопровождающихся потерей большого количества жидкости и электролитов, — тяжелой рвоте беременных, пилоростенозе, непроходимости кишок, обильном поносе, сильном потении, в послеоперационном периоде, при алкалотических состояниях во время лечения щелочами, извы желудка, при обширных ожогах и др. Однако наиболее важное диагностическое значение имеет увеличение количества остаточного азота при заболеваниях почек, когда наблюдается увеличение в 2—10 раз и больше; при этом количество остаточного азота в общем пропорционально тяжести поражения, так что определение его имеет прогностическое значение. Исключения, при которых тяжелая клиническая картина почечного заболевания сопровождается лишь небольшой задержкой в крови остаточного азота, относительно редки. Все же однократные исследования представляют меньший интерес, чем систематически производимые повторные определения, дающие представление о динамике заболевания. У детей с острым нефритом азотемия отмечается нередко уже в первые дни болезни; стойкое повышение после трех недель служит плохим прогностическим признаком.

Азот, содержащийся в фильтрате крови после удаления белков (остаточный азот), представляет собой сумму азотов, входящих в состав мочевины, мочевой кислоты и других продуктов белкового распада. При заболеваниях почек выделение азотистых веществ нередко нарушается неравномерно по отношению к этим отдельным фракциям: выделение, например, креатинина может быть нарушено раньше, чем выделение мочевой кислоты. Но отсюда ясно, что если нарушено выделение главным образом одной какой-либо фракции, азот которой составляет при нормальных условиях лишь ничтожную часть остаточного азота, например, выделение



иникана, то это нарушение не отражается сколько-нибудь существенным образом на количестве содержащегося в крови общего остаточного азота.

Иначе обстоит дело при увеличении мочевины, азот которой в норме составляет 50% остаточного азота. С увеличением азота мочевины до 85% остаточного азота последний (RN) будет повышенным. Поэтому несомненный интерес в диагностическом и прогностическом отношении представляет и определение отдельных азотистых фракций; и действительно, нередко определение количества мочево́й кислоты, мочевины, креатинина и др. дает более ценные указания, нежели определение всего остаточного азота (см. также «Функциональное исследование почек по химическому исследованию крови»).

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЗОТА АМИНОКИСЛОТ

1) Колориметрическое определение. Принцип. Аминокислоты дают с  $\beta$ -нафтохионсульфоновокислым натрием окрашивание, пригодное для сравнения в колориметре со стандартным раствором аминокислот, обработанным одинаковым образом.

Реактивы: 1 и 2) для осаждения белков по новому способу Фолина (стр. 156); 3) 1,5% раствор буры ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ ); 4) свежеприготовленный 0,5% раствор  $\beta$ -нафтохионсульфоновокислого натрия. Приступая к обработке фильтрата крови, готовят раствора столько, сколько нужно для намеченного на данный день числа опытов. Реактив отвешивают на точных весах; ошибка допустима в пределах 5%. Переносят количественно в эрленмейеровскую колбу и наливают требуемое количество дистиллированной воды. Порошок растворяется не сразу, почему и рекомендуется готовить его заранее. Ставят его в место, защищенное от света, и повторно взбалтывают. Испытание качества реактива: при прибавлении раствора гипосульфита (см. ниже — 5а) и раствора формальдегида (5б) желтое окрашивание должно исчезнуть; 5) раствор для обесцвечивания избытка окраски: 5а) 10% раствор гипосульфита, 5б) кислый раствор формальдегида: изготавливают 0,15 н раствор формальдегида (с удовлетворительной точностью), отмеривая 11,3 см<sup>3</sup> обычного продажного 40% формальдегида в мерную колбу емкостью в 1 л и доводя водой до метки. Приготавливают 1,5 н раствор соляной кислоты: отмеривают 124,5 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты (удельного веса 1,19) в мерную колбу емкостью в 1 л и доводят водой до метки. Смешивают 1 объем ледяной уксусной кислоты, 3 объема соляной кислоты и 4 объема раствора формальдегида. Так как при постановке опыта этот реактив расходуется в таком же количестве, как предыдущего реактива (5а) было изготовлено 1 л, то смешивают 125 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты, 375 см<sup>3</sup> соляной кислоты и 500 см<sup>3</sup> формальдегида; 6) 0,07 н раствор соляной кислоты: отмеривают 5,81 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты удельного веса 1,19 в мерную колбу емкостью в 1 л, прибавляют 2 г бензойнокислого натрия и доводят водой до метки; 7) стандартный раствор аминокислот. Готовят из двух аминокислот: гликокола и глютаминовой кислоты. Оба раствора изготавливают отдельно с таким расчетом, чтобы 1 см<sup>3</sup> раствора содержал 0,1 мг азота соответствующей аминокислоты. Отвешивают на аналитических весах 0,5357 г гликокола, растворяют в мерной колбе емкостью в 100 см<sup>3</sup> в небольшом количестве соляной кислоты (6) и доводят той же кислотой до метки. Отвешивают на аналитических весах 1,0500 г глютамино-



вой кислоты и растворяют точно так же, как предыдущий. Из этих двух растворов готовят стандартный раствор: в мерную колбу емкостью в 100 см<sup>3</sup> отмеривают 15 см<sup>3</sup> гликоколевого раствора и 15 см<sup>3</sup> глютаминового раствора и доводят соляной кислотой (6) до метки; этот раствор содержит 0,03 мг азота аминокислот в 1 см<sup>3</sup>. За неимением глютаминовой кислоты можно, приготовив раствор гликокола указанной концентрации, отмерить 30 см<sup>3</sup> этого раствора в колбу на 100 см<sup>3</sup> и долить затем раствор соляной кислотой до метки. Для определения аминокислот в крови нормального человека этой концентрации обычно достаточно. Для исследования крови животных, значительно более богатой аминокислотами, надо изготовить раствор более высокой концентрации, например, содержащий 0,05 мг в 1 см<sup>3</sup>. Поскольку количество кислоты в стандартном растворе рассчитано в строгом соответствии со степенью кислотности кровяного фильтрата, не следует удваивать количество стандартного раствора более слабой концентрации, а надо приготовить более концентрированный стандартный раствор, взяв большее количество исходных растворов; 8) серновольфрамовый раствор: 15 г безводного сернокислого натрия и 1,5 г вольфрамовокислого натрия растворяют в небольшом количестве воды и доводят до 1125 см<sup>3</sup>.

**Ход определения.** Отмеривают в мерную колбочку емкостью в 25 см<sup>3</sup> 10 см<sup>3</sup> безбелкового фильтрата крови. Если последний был приготовлен по новому способу Фолина, то он имеет определенную степень кислотности, притом одинаковую со стандартным раствором. Поэтому можно, не исправляя реакции, непосредственно добавить 2 см<sup>3</sup> буры (3), причем получается слабозерозовое окрашивание; смешивают, добавляют 2 см<sup>3</sup> раствора β-нафтохионсульфоновокислого натрия (4); вновь тщательно смешивают. В другую такую же колбочку отмеривают 1 см<sup>3</sup> стандартного раствора (7), прибавляют 9 см<sup>3</sup> серновольфрамового реактива (8), чтобы приблизить состав стандарта к составу фильтрата, далее, 2 см<sup>3</sup> буры (3) и 2 см<sup>3</sup> раствора сульфоновокислого натрия (4), каждый раз тщательно смешивают. Ставят все колбы в темное место на 18—24 часа.

Если фильтрат крови был приготовлен по какому-либо другому способу и реакция его неизвестна, то прибавляют 1 каплю 0,25% раствора фенолфталеина и исправляют реакцию, прибавляя едкий натр или соляную кислоту, пока не будет достигнута слабозерозовая окраска, одинаковая с окраской стандарта. Стандарт в этом случае готовят несколько иначе: отмеривают 1 см<sup>3</sup> стандартного раствора (7), приливают 4 см<sup>3</sup> воды и 1 каплю 0,25% раствора фенолфталеина; окраска должна быть слабозерозовой; если нужно, прибавляют по каплям слабый раствор едкого натра. В обе колбы прибавляют по 2 см<sup>3</sup> буры (3) и по 2 см<sup>3</sup> сульфоновокислого натрия (4) и ставят в темное место.

По истечении указанного срока прибавляют во все колбы (пробы и стандартный раствор) по 2 см<sup>3</sup> гипосульфита (5а) и по 2 см<sup>3</sup> формальдегида (5б), доводят водой до метки, тщательно смешивают. Спустя 4—5 минут можно колориметрировать.

Если имеется только 5 см<sup>3</sup> фильтрата, то количество реактивов уменьшают в 2 раза, ведут реакцию в градуированной пробирке или колбочке емкостью в 15 см<sup>3</sup> и доливают только до этого количества. Стандартный раствор готовят, как было описано выше, но доводят до 30 см<sup>3</sup>.

**Вычисление** — по общим правилам колориметрии.

**Пример.** Было взято 10 см<sup>3</sup> фильтрата крови, разведенной в 10 раз. Стандартный раствор содержал в 1 см<sup>3</sup> 0,03 мг азота аминокислот и был поставлен на 20 мм; при одинаковой степени окрашивания высота стояния



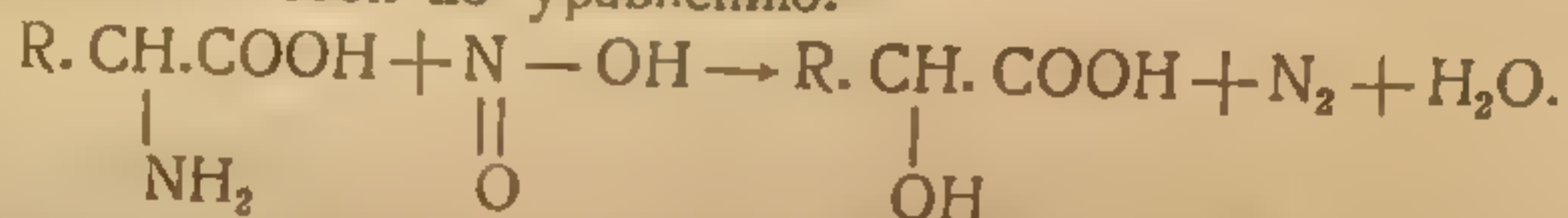
пробы была 22 мм. Отсюда содержание азота аминокислот в исследуемой крови в миллиграмм-процентах:

$$\frac{20}{22} \times 0,03 \times 100 = \frac{20}{22} \times 3 = 2,73 \text{ мг}\%.$$

Кровь здорового молодого человека содержит около 5—8 мг% азота аминокислот, плазма — 3—6 мг%, клетки — 7—12 мг%. Эти величины относятся, однако, только к описанному методу.

2) Газометрическое определение по ван Слайку. Принцип. Метод количественного определения аминокислот, предложенный ван Слайком, относится к газометрическим анализам, при которых о количестве вещества судят по объему или по давлению газа, образующегося или поглощаемого в процессе реакции.

Определение аминокислот основано на реакции свободных аминогрупп с азотистой кислотой по уравнению:



Выделившийся в процессе реакции азот освобождают от окислов азота, образующихся при разложении азотистой кислоты, после чего измеряют объем оставшегося газа.

Найденную величину делят пополам, так как только половина азота образуется за счет разложения свободных аминогрупп (см. уравнение), и вычисляют количество аминокислот в растворе. Определение производится в аппарате ван Слайка (рис. 76).

Реактивы: 1) азотистокислый натрий ( $\text{NaNO}_2$ ) 30%; 2) уксусная кислота 80%; 3) щелочный раствор перманганата (50 г  $\text{KMnO}_4$  + 25 г  $\text{NaOH}$  в 1 л воды).

Описание прибора. Аппарат ван Слайка (рис. 76) состоит из реакционного сосуда Б, который с помощью крана С соединен с воронкой А и с помощью полулунного крана в с бюреткой В. Реакционный сосудик внизу заканчивается краном б для стока прореагировавшей жидкости. Верхняя часть реакционного сосуда над перетяжкой имеет расширение и дальше переходит в узкую трубочку, Т-образно изогнутую и имеющую посредине трехходовой (L) кран д. Изогнутая трубочка небольшим отрезком каучуковой трубочки соединена почти вплотную с измерительной бюреткой 1.

Нижний расширенный конец бюретки 1 имеет отросток, на ко-

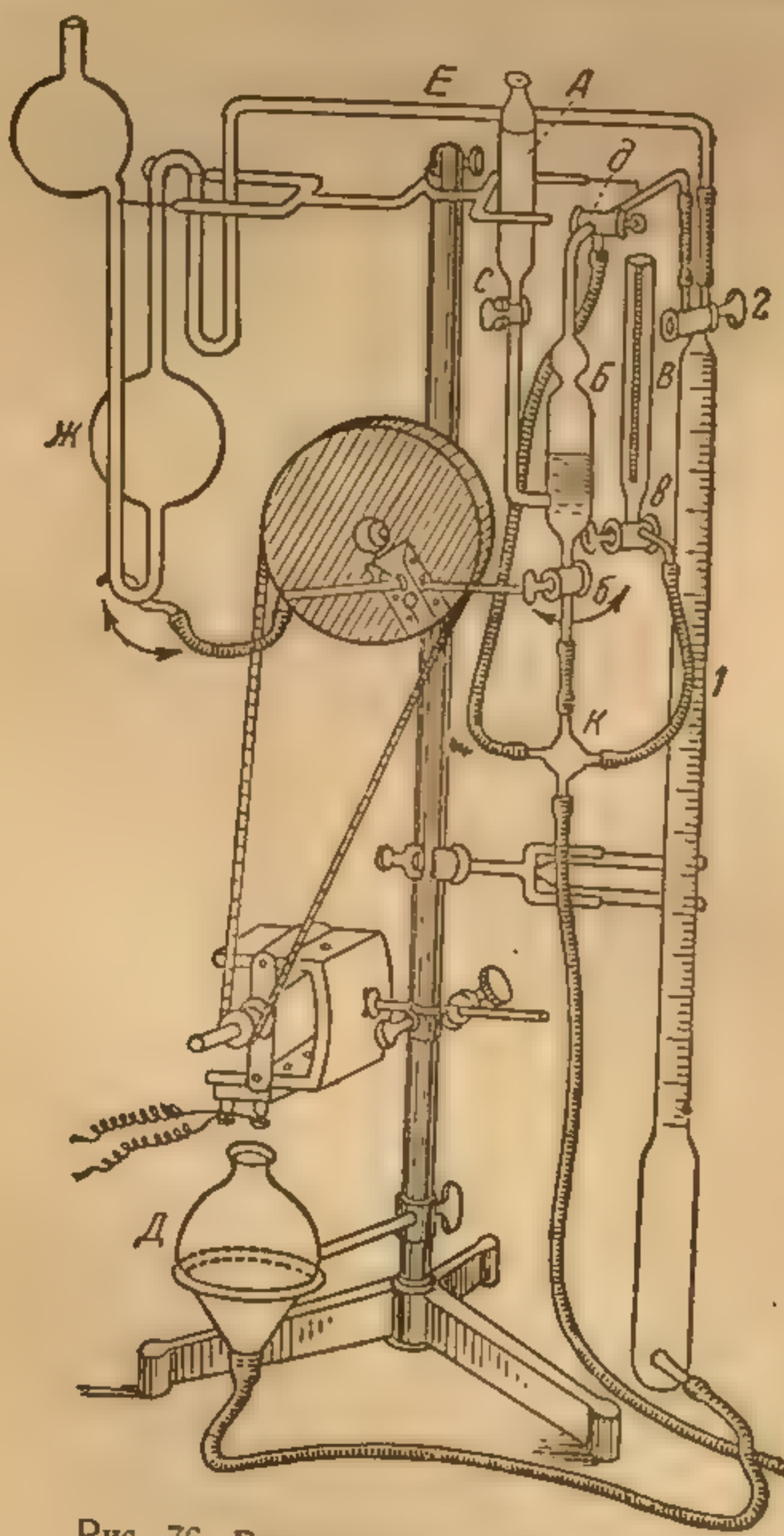


Рис. 76. Газометрический аппарат ван Слайка для определения аминокислот.



тоый надевается длинная (1 м) каучуковая трубка со стеклянной грушей  $D$  на конце, служащей для заполнения прибора водой и приведения в движение жидкости в приборе. На верхнем конце измерительной бюретки имеется кран 2 с двумя параллельными ходами ( $\parallel$ ), позволяющий соединять бюретку или с реакционным сосудиком ( $\nabla$ ), или с соединительной трубкой  $E$  и, далее, с гемпелевской пипеткой  $Ж$  ( $\parallel$ ). Гемпелевская пипетка представляет собой сосуд, состоящий из двух шарообразных резервуаров, заполняемых щелочным раствором перманганата, и служит для поглощения окислов азота. Соединительная трубка  $E$  с помощью каучуковых трубок соединена почти вплотную с измерительной бюреткой и гемпелевской пипеткой. На отростки кранов  $б$ ,  $в$  и  $д$  надеты каучуковые трубки, соединенные с тремя концами соединения  $K$ , на четвертый конец которого надета каучуковая трубка, опущенная в раковину или пустую банку.

Подготовка прибора к анализу. Перед определением все краны прибора должны быть тщательно смазаны ланолином или особой смазкой для кранов, состоящей из воска и вазелина. Перед смазкой краны и втулки кранов обезжиривают эфиром и уже затем пальцем наносят на кран равномерный небольшой слой ланолина (следить за тем, чтобы в ходах крана не оставалось смазки!), после чего кран тщательно протирают (кран после протирки должен быть совершенно прозрачным, без полос) и укрепляют с помощью резинок. Затем краны 2 и  $д$  устанавливают на соединение бюретки и реакционного сосудика с наружной средой ( $\nabla$ ) и при помощи груши  $D$  наполняют бюретку водой. При наполнении водой каучуковую трубку все время проминают, чтобы в ней не застревали пузырьки воздуха. После заполнения бюретки водой кран 2 закрывают ( $=$ ) и гемпелевскую пипетку  $Ж$  заполняют щелочным раствором перманганата. Для этого, установив кран 2 на соединение с бюреткой ( $\parallel$ ) и опуская грушу  $D$ , втягивают перманганат в гемпелевскую пипетку и соединительную трубку  $E$ . Как только перманганат заполнит гемпелевскую пипетку и соединительную трубку и появится в измерительной бюретке, кран 2 ставят на соединение с реакционным сосудиком ( $\nabla$ ) и, поднимая грушу  $D$ , удаляют перманганат из бюретки через кран  $д$  (верхний резервуар гемпелевской пипетки должен быть заполнен перманганатом наполовину).

Ход определения. Кран  $д$  ставят в положение, при котором реакционный сосудик соединяется с наружной средой ( $-|$ ); краны  $с$  и  $б$  закрывают; в воронку  $A$  наливают уксусной кислоты до нижней метки и, открыв кран  $с$ , спускают ее в реакционный сосудик  $Б$ , после чего кран  $с$  закрывают. Затем в воронку  $A$  наливают раствор азотистокислого натрия до верхней метки и также спускают его в реакционный сосудик. Как только жидкость, заполнив реакционный сосудик, дойдет до крана  $д$ , его закрывают ( $\perp$ ) и реакционный сосудик встряхивают. Окислы азота, образующиеся в процессе реакции между азотистокислым натрием и уксусной кислотой, вытесняют жидкость в воронку  $A$  (кран  $с$  открыт). Когда окислы азота заполнят реакционный сосудик до уровня отхода боковых трубок, кран  $д$  устанавливают на соединение с наружной средой ( $-|$ ), и реакционный сосуд снова заполняется смесью уксусной кислоты и азотистокислого натрия из воронки  $A$ . Еще раз повторяют эту операцию (заполнение реакционного сосудика окислами азота при встряхивании и вытеснении их через кран  $д$  жидкостью из воронки  $A$ ). Таким путем окислы азота вытесняют воздух из аппарата. В третий раз заполняют реакционный сосудик окислами азота, после чего кран  $с$  закрывают и, опустив грушу  $D$  до уровня нижней части бюретки  $I$ , устанавливают кран  $д$  на соединение реакционного сосудика с измерительной бюреткой  $I$  ( $\perp$ ).



Бюретку В и ход крана в заполняют исследуемым раствором, устанавливая кран время от времени на соединение с наружной средой (∪) и, осторожно переводя кран на соединение бюретки В с реакционным сосудиком Б (┘), спускают в него исследуемую жидкость (следить за тем, чтобы за жидкостью не проскочил пузырек воздуха; если он проскочит, анализ следует считать испорченным и определение надо начинать снова). Реакционный сосудик встряхивают с помощью мотора<sup>1</sup>; образующийся в процессе реакции газообразный азот и окислы азота переходят в измерительную бюретку I, благодаря отрицательному давлению в ней. Если во время встряхивания образуется большое количество окислов азота, причем они доходят до нижнего конца измерительной бюретки и могут попасть в каучуковую трубку, то встряхивание прекращают, кран 2 устанавливают на соединение с гемпелевской пипеткой (//) и в то же время, поднимая грушу Д, переводят часть газа в гемпелевскую пипетку, после чего, установив кран 2 снова на соединение с реакционным сосудиком, продолжают встряхивание. По окончании встряхивания (для разложения α-аминокислот достаточно встряхивать в течение 5 минут), открыв кран С, вытесняют жидкостью из воронки весь газ из реакционного сосудика Б в измерительную бюретку I. Как только жидкость появится под краном 2, кран 2 закрывают и, поднимая грушу Д, устанавливают его на соединение с гемпелевской пипеткой Ж. При этом весь газ из бюретки переходит в гемпелевскую пипетку (жидкость из бюретки должна появиться в нижней груше гемпелевской пипетки). Закрывают кран 2(=) и в течение одной минуты встряхивают гемпелевскую пипетку. При этом окислы азота поглощаются щелочным раствором перманганата. Устанавливают кран 2 на соединение с гемпелевской пипеткой (//) и, опуская грушу Д, переводят оставшийся газ в бюретку. Кран 2 закрывают и измеряют объем газа, держа грушу Д на одном уровне с жидкостью в бюретке (измерение объема газа при атмосферном давлении). Газ из бюретки снова переводят в гемпелевскую пипетку, встряхивают и снова измеряют его объем в бюретке. При правильной работе и хороших реактивах первый и второй отсчеты совпадают; в противном случае поглощение окислов азота перманганатом повторяют до получения совпадающих отсчетов. Одновременно отмечают температуру и барометрическое давление. По окончании опыта кран 2 устанавливают на соединение с реакционным сосудиком (∖), кран д — на соединение с наружной средой (┘) и, поднимая грушу Д, вытесняют из бюретки водой газ и промывают ее от перманганата. Краны С и б открывают, выпускают жидкость из воронки А и реакционного сосудика Б, промывают их водой и вновь повторяют определение.

**Слепой опыт.** Для определения количества газа, образующегося при встряхивании из примесей азотистокислого натрия и не поглощаемого щелочным раствором перманганата, проводят так называемый слепой опыт, т. е. то же определение, но вместо испытуемой жидкости берут равный ей объем воды.

**Расчеты.** Исходя из того, что 1 грамм молекула вещества при нормальных условиях (температура 0° и давление 760 мм) занимает объем 22,4 л (закон Авогадро), можно по объему выделившегося газа вычислить количество азота аминогрупп в исследуемой жидкости. Для этого из объема газа, выделившегося во время основного опыта, вычитают объем газа слепого опыта и, разделив разность пополам (см. выше), находят

<sup>1</sup> Если при встряхивании жидкость пенится, то к исследуемой жидкости добавляют каплю октилового спирта.



объем газа, образовавшегося за счет разложения аминокрупп. Найденный объем приводят к нормальным условиям по формуле или пользуясь специальными таблицами.

Формула приведения газа к нормальным условиям:

$$V_0 = V \frac{(P - f) 273}{760 (273 + T)},$$

где  $V$  — объем газа при давлении  $P$  и температуре  $T$ ;

$P$  — барометрическое давление, при котором производилось определение;

$f$  — упругость насыщенного водяного пара при температуре  $T$ .

$T$  — температура, при которой производилось определение.

Количество азота аминокрупп во взятой пробе будет (в мг):

$$x = \frac{1,2508 \cdot V_0 \cdot 100}{a},$$

где 1,2508 — вес 1 см<sup>3</sup> сухого азота в миллиграммах<sup>1</sup>;

$V_0$  — объем газа при нормальных условиях;

$a$  — количество кубических сантиметров исследуемой жидкости, взятой для анализа.

Для расчета можно пользоваться табл. 31, где указан вес 1 см<sup>3</sup> сухого азота, собранного над водой при давлении  $P$  и температуре  $T$ . Умножив найденную величину на объем выделившегося газа ( $V$ ), разделив на количество кубических сантиметров исследуемой жидкости ( $a$ ), взятой для анализа, и умножив на 100, находят количество аминоказота в миллиграмм-процентах.

Количественное определение азота аминокислот не получило большого диагностического значения и производится главным образом для научных исследований.

В норме количество аминокислот колеблется от 8 до 13 мг<sup>0</sup>/о.

Повышение до 20—25 мг<sup>0</sup>/о и выше наблюдается при острой желтой атрофии и других деструктивных заболеваниях печени. При хронических гепатитах наблюдаются нормальные величины.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛИПЕПТИДОВ

Принцип. Разность между количеством остаточного азота в двух безбелковых фильтрах, из которых один получен после воздействия осадителя, захватывающего почти один белок, а другой — осадителя, захватывающего, наоборот, возможно полнее высокомолекулярные вещества и оставляющего в фильтрате только аминокислоты и низкомолекулярные пептиды (а также, конечно, мочевую кислоту, мочевины и т. п.), может считаться соответствующей общему количеству полипептидов (точнее, разностный азот).

Реактивы. 1) 1<sup>0</sup>/о раствор коллоидной окиси железа; 2) 0,5<sup>0</sup>/о фосфорномолибденовая кислота (стр. 156); 3) насыщенный раствор сернокислого натрия; 4) все реактивы, нужные для определения остаточного азота одним из вышеуказанных методов (стр. 182).

Ход определения. В центрифужную пробирку отмеривают точно 1,9 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, спускают в нее 0,1 см<sup>3</sup> крови, взятой микропипеткой; тщательно смешивают, прибавляют 1 см<sup>3</sup> насыщенного раствора сернокислого натрия (3), смешивают, приливают 3 см<sup>3</sup> колло-

<sup>1</sup> 1 граммолекула азота (28 г) при нормальных условиях занимает объем в 22,4 л, откуда 1 см<sup>3</sup> сухого азота будет весить 1,2508 мг.



Вес сухого азота, содержащегося в 1 см<sup>3</sup> газа, собранного над водой в (милли

Деления в мм ртутного столба	Темпе									
	10°	11°	12°	13°	14°	15°	16°	17°	18°	19°
720	1,128	1,123	1,118	1,113	1,108	1,103	1,098	1,093	1,088	1,082
722	1,131	1,127	1,122	1,116	1,111	1,106	1,101	1,096	1,091	1,085
724	1,135	1,130	1,125	1,120	1,114	1,109	1,104	1,099	1,094	1,088
726	1,138	1,133	1,128	1,123	1,118	1,112	1,107	1,102	1,097	1,091
728	1,141	1,136	1,131	1,125	1,121	1,115	1,110	1,105	1,100	1,095
730	1,144	1,139	1,134	1,129	1,124	1,119	1,114	1,108	1,103	1,097
732	1,147	1,142	1,137	1,132	1,127	1,122	1,117	1,111	1,106	1,101
734	1,151	1,146	1,140	1,135	1,130	1,125	1,120	1,115	1,109	1,104
736	1,154	1,149	1,144	1,138	1,133	1,128	1,123	1,118	1,112	1,107
738	1,157	1,152	1,147	1,142	1,136	1,131	1,125	1,121	1,115	1,110
740	1,160	1,155	1,150	1,145	1,139	1,134	1,129	1,124	1,118	1,113
742	1,163	1,158	1,153	1,148	1,143	1,137	1,132	1,127	1,121	1,115
744	1,166	1,161	1,155	1,151	1,146	1,141	1,135	1,130	1,125	1,119
746	1,170	1,165	1,159	1,154	1,149	1,144	1,138	1,133	1,127	1,121
748	1,173	1,168	1,162	1,157	1,152	1,147	1,142	1,136	1,131	1,125
750	1,175	1,171	1,166	1,160	1,155	1,150	1,145	1,139	1,134	1,128
752	1,179	1,174	1,169	1,164	1,158	1,153	1,148	1,142	1,137	1,131
754	1,182	1,177	1,172	1,167	1,161	1,156	1,151	1,145	1,140	1,134
756	1,185	1,180	1,175	1,170	1,165	1,159	1,154	1,149	1,143	1,137
758	1,189	1,184	1,178	1,173	1,168	1,162	1,157	1,152	1,146	1,140
760	1,192	1,187	1,181	1,176	1,171	1,165	1,160	1,155	1,149	1,143
762	1,195	1,190	1,185	1,179	1,174	1,169	1,163	1,158	1,152	1,146
764	1,198	1,193	1,188	1,182	1,177	1,172	1,166	1,161	1,155	1,149
766	1,201	1,196	1,191	1,186	1,180	1,175	1,170	1,164	1,158	1,152
768	1,205	1,199	1,194	1,189	1,183	1,178	1,173	1,167	1,161	1,155
770	1,208	1,202	1,197	1,192	1,186	1,181	1,176	1,170	1,164	1,158

Таблица 31

грамм) (для определения аминокислот по методу ван Слайка)

температура										
20°	21°	22°	23°	24°	25°	26°	27°	28°	29°	30°
1,077	1,072	1,066	1,061	1,055	1,049	1,044	1,038	1,032	1,027	1,022
1,080	1,075	1,069	1,064	1,058	1,052	1,047	1,041	1,035	1,030	1,023
1,083	1,078	1,072	1,067	1,061	1,055	1,050	1,044	1,038	1,033	1,026
1,086	1,081	1,075	1,070	1,064	1,058	1,053	1,047	1,041	1,036	1,029
1,089	1,084	1,078	1,073	1,067	1,061	1,055	1,050	1,044	1,039	1,032
1,092	1,087	1,081	1,076	1,070	1,064	1,059	1,053	1,047	1,042	1,035
1,095	1,090	1,084	1,079	1,073	1,068	1,062	1,056	1,050	1,044	1,038
1,098	1,093	1,088	1,082	1,076	1,071	1,065	1,059	1,053	1,047	1,041
1,102	1,096	1,091	1,085	1,079	1,074	1,068	1,062	1,056	1,050	1,044
1,105	1,099	1,094	1,088	1,082	1,077	1,071	1,065	1,059	1,053	1,047
1,108	1,102	1,097	1,091	1,085	1,080	1,074	1,068	1,062	1,056	1,050
1,111	1,105	1,100	1,094	1,088	1,083	1,077	1,071	1,065	1,059	1,053
1,114	1,108	1,103	1,097	1,091	1,086	1,080	1,074	1,068	1,062	1,056
1,117	1,111	1,105	1,100	1,094	1,089	1,083	1,077	1,071	1,065	1,059
1,120	1,114	1,109	1,103	1,097	1,092	1,086	1,080	1,074	1,068	1,062
1,123	1,117	1,112	1,106	1,100	1,095	1,089	1,083	1,077	1,071	1,065
1,126	1,120	1,115	1,109	1,103	1,098	1,092	1,086	1,080	1,074	1,068
1,129	1,123	1,118	1,112	1,107	1,101	1,095	1,089	1,083	1,077	1,071
1,132	1,127	1,121	1,115	1,110	1,104	1,098	1,092	1,086	1,080	1,074
1,135	1,130	1,124	1,118	1,113	1,107	1,101	1,095	1,089	1,083	1,077
1,138	1,133	1,127	1,121	1,116	1,110	1,104	1,098	1,092	1,086	1,080
1,141	1,136	1,130	1,124	1,119	1,113	1,107	1,101	1,095	1,089	1,083
1,144	1,139	1,133	1,127	1,122	1,116	1,110	1,104	1,098	1,092	1,086
1,148	1,142	1,136	1,130	1,125	1,119	1,113	1,107	1,101	1,095	1,089
1,151	1,145	1,139	1,133	1,128	1,122	1,116	1,110	1,104	1,098	1,092
1,154	1,148	1,142	1,137	1,131	1,125	1,119	1,113	1,107	1,101	1,095



Вес сухого азота, содержащегося в 1 см<sup>3</sup> газа, собранного над водой в (милли

Деления в мм ртутного столба	Темпе									
	10°	11°	12°	13°	14°	15°	16°	17°	18°	19°
720	1,128	1,123	1,118	1,113	1,108	1,103	1,098	1,093	1,038	1,082
722	1,131	1,127	1,122	1,116	1,111	1,106	1,101	1,096	1,091	1,085
724	1,135	1,130	1,125	1,120	1,114	1,109	1,104	1,090	1,094	1,088
726	1,138	1,133	1,128	1,123	1,118	1,112	1,107	1,102	1,097	1,091
728	1,141	1,136	1,131	1,125	1,121	1,115	1,110	1,105	1,100	1,095
730	1,144	1,139	1,134	1,129	1,124	1,119	1,114	1,108	1,103	1,097
732	1,147	1,142	1,137	1,132	1,127	1,122	1,117	1,111	1,106	1,101
734	1,151	1,146	1,140	1,135	1,130	1,125	1,120	1,115	1,109	1,104
736	1,154	1,149	1,144	1,138	1,133	1,128	1,123	1,118	1,112	1,107
738	1,157	1,152	1,147	1,142	1,136	1,131	1,125	1,121	1,115	1,110
740	1,160	1,155	1,150	1,145	1,139	1,134	1,129	1,124	1,118	1,113
742	1,163	1,158	1,153	1,148	1,143	1,137	1,132	1,127	1,121	1,116
744	1,165	1,161	1,155	1,151	1,146	1,141	1,135	1,130	1,125	1,119
746	1,170	1,165	1,159	1,154	1,149	1,144	1,138	1,133	1,128	1,122
748	1,173	1,168	1,162	1,157	1,152	1,147	1,142	1,136	1,131	1,125
750	1,176	1,171	1,166	1,160	1,155	1,150	1,145	1,139	1,134	1,128
752	1,179	1,174	1,169	1,164	1,158	1,153	1,148	1,142	1,137	1,131
754	1,182	1,177	1,172	1,167	1,161	1,156	1,151	1,145	1,140	1,135
756	1,185	1,180	1,175	1,170	1,165	1,159	1,154	1,149	1,143	1,138
758	1,189	1,184	1,178	1,173	1,168	1,162	1,157	1,152	1,146	1,141
760	1,192	1,187	1,181	1,176	1,171	1,165	1,160	1,155	1,149	1,143
762	1,195	1,190	1,185	1,179	1,174	1,169	1,163	1,158	1,152	1,147
764	1,198	1,193	1,188	1,182	1,177	1,172	1,166	1,161	1,155	1,150
766	1,201	1,196	1,191	1,186	1,180	1,175	1,170	1,164	1,158	1,153
768	1,205	1,199	1,194	1,189	1,183	1,178	1,173	1,167	1,162	1,156
770	1,208	1,202	1,197	1,192	1,186	1,181	1,176	1,170	1,165	1,159



грамм) (для определения аминокислот по методу ван Слайка)

температура

20°	21°	22°	23°	24°	25°	26°	27°	28°	29°	30°
1,077	1,072	1,066	1,061	1,055	1,049	1,044	1,038	1,032	1,027	1,020
1,080	1,075	1,069	1,064	1,058	1,052	1,047	1,041	1,035	1,030	1,023
1,083	1,078	1,072	1,067	1,061	1,055	1,050	1,044	1,038	1,033	1,026
1,086	1,081	1,075	1,070	1,064	1,058	1,053	1,047	1,041	1,036	1,029
1,089	1,084	1,078	1,073	1,067	1,061	1,056	1,050	1,044	1,039	1,032
1,092	1,087	1,081	1,076	1,070	1,064	1,059	1,053	1,047	1,042	1,035
1,095	1,090	1,084	1,079	1,073	1,068	1,062	1,056	1,050	1,044	1,038
1,098	1,093	1,088	1,082	1,076	1,071	1,065	1,059	1,053	1,047	1,041
1,102	1,096	1,091	1,085	1,079	1,074	1,068	1,062	1,056	1,050	1,044
1,105	1,099	1,094	1,088	1,082	1,077	1,071	1,065	1,059	1,053	1,047
1,108	1,102	1,097	1,091	1,085	1,080	1,074	1,068	1,062	1,056	1,050
1,111	1,105	1,100	1,094	1,088	1,083	1,077	1,071	1,065	1,059	1,053
1,114	1,108	1,103	1,097	1,091	1,086	1,080	1,074	1,068	1,062	1,056
1,117	1,111	1,106	1,100	1,094	1,089	1,083	1,077	1,071	1,065	1,059
1,120	1,114	1,109	1,103	1,097	1,092	1,086	1,080	1,074	1,068	1,062
1,123	1,117	1,112	1,106	1,100	1,095	1,089	1,083	1,077	1,071	1,065
1,126	1,120	1,115	1,109	1,103	1,098	1,092	1,086	1,080	1,074	1,068
1,129	1,123	1,118	1,112	1,107	1,101	1,095	1,089	1,083	1,077	1,071
1,132	1,127	1,121	1,115	1,110	1,104	1,098	1,092	1,086	1,080	1,074
1,135	1,130	1,124	1,118	1,113	1,107	1,101	1,095	1,089	1,083	1,077
1,138	1,133	1,127	1,121	1,116	1,110	1,104	1,098	1,092	1,086	1,080
1,141	1,136	1,130	1,124	1,119	1,113	1,107	1,101	1,095	1,089	1,083
1,144	1,139	1,133	1,127	1,122	1,116	1,110	1,104	1,098	1,092	1,086
1,148	1,142	1,136	1,130	1,125	1,119	1,113	1,107	1,101	1,095	1,089
1,151	1,145	1,139	1,133	1,128	1,122	1,116	1,110	1,104	1,098	1,092
1,154	1,148	1,142	1,137	1,131	1,125	1,119	1,113	1,107	1,101	1,095



идного железа (1), тщательно смешивают. Осадок должен осесть на дно пробирки. Если он падает на дно слоями, то прибавляют на кончике ножа сернокислого натрия; если и это не помогает, добавляют еще 0,3 см<sup>3</sup> коллоидного железа; в последнем случае изменяется степень разведения, что необходимо учесть при расчете. Оставляют стоять 2 часа. В этой стадии можно также оставить до следующего дня, закрыв пробирку фольгой. Центрифугируют (или фильтруют); жидкость должна быть совершенно бесцветной и прозрачной; посредством сульфосалициловой кислоты убеждаются в отсутствии белка.

В другую центрифужную пробирку отмеривают 0,9 см<sup>3</sup> воды и спускают в нее 0,1 см<sup>3</sup> крови; смешивают, прибавляют 3 см<sup>3</sup> фосфорномолибденовой кислоты, тщательно смешивают. Через 1—2 часа центрифугируют (или фильтруют).

Из того и другого фильтрата отмеривают по 0,5 см<sup>3</sup> и определяют количество остаточного азота по одному из описанных ранее способов.

Вычисление — см. соответствующие способы. Разность между двумя полученными результатами обозначают как азот полипептидов. Среднее количество азота полипептидов нормальной крови по этому способу равно 110 мг<sup>0</sup>/о с колебаниями от 60 до 120 мг<sup>0</sup>/о (этот метод дает наивысшие цифры).

Можно пользоваться и другими осадителями, например, фосфорновольфрамовой кислотой, которая осаждает из крови белки и полипептиды, и трихлоруксусной кислотой, которая полипептиды оставляет в растворе, так что в фильтрате после осаждения трихлоруксусной кислотой содержится больше азота, чем в первом. Эта разность между количеством азота во втором и в первом фильтрате идет преимущественно за счет полипептидов, так что ее часто обозначают как азот полипептидов; правильнее было бы и в этом случае называть полученную величину разностным азотом (в литературе можно встретить также выражение «двойной азот»).

В норме количество разностного азота не превышает нескольких миллиграммов в 100 см<sup>3</sup> крови; в патологических случаях оно может доходить до 30 мг<sup>0</sup>/о и больше. Параллелизма между количеством полипептидов в крови и концентрацией остаточного азота нет, так как первый зависит, повидимому, прежде всего от состояния печени (функция расщепления белков), а вторая — от способности почек выделять продукты азотистого обмена.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЧЕВИНЫ

1) По способу с уреазой. Принцип. Фермент уреазы, обнаруженный в бобах сои, переводит мочевину в углекислый аммоний. Из углекислого аммония при прибавлении щелочи освобождается аммиак. Аммиак перегоняют. К продукту перегонки (а при простейшем способе к тому же раствору, в котором происходило разложение мочевины) прибавляют реактив Несслера и сравнивают в калориметре интенсивность пожелтения с пожелтением стандартного раствора.

Можно также перегнать аммиак в отмеренное количество титрованного раствора кислоты и определить количество аммиака по нейтрализованной им кислоте, как в способе Кьельдаля или как описано ниже, или произвести определение в специальном сосудике (стр. 186).

Требуемое количество крови: 1,5—2 см<sup>3</sup> оксалатной крови. Количество щавелевокислого калия не должно превышать 20 мг на 10 см<sup>3</sup> крови; избыток препятствует полному осаждению белков.



Реактивы: 1 и 2) реактивы для осаждения белков по Фолину (см. «Осаждение белков»); 3) раствор уреазы. Фермент уреазу добывают из бобов сои, истолченных в мелкую муку. Чтобы раствор уреазы не содержал аммиака, его готовят с пермутитом (пермутит — силикат алюминия): 3 г пермутита помещают в измерительный стеклянный цилиндр, приливают 100 см<sup>3</sup> 20% уксусной кислоты, тщательно взбалтывают, дают жидкости отстояться, сливают ее, наливают такое же количество дистиллированной воды, взбалтывают, сливают и еще два раза так же промывают водой. Прибавляют к пермутиту 100 см<sup>3</sup> 30% спирта (35 см<sup>3</sup> 95% спирта + 70 см<sup>3</sup> воды), 5 г муки бобов сои и встряхивают в течение 15 минут; встряхивание лучше производить в специальном (шюттель) аппарате. Фильтруют сквозь плотный фильтр и разливают в несколько маленьких флаконов, которые хранят тщательно закупоренными на холоду; 4) буферный раствор. Уреазы, как и другие ферменты, оказывает оптимальное действие только при определенной степени кислотности среды; между тем при превращении мочевины в углекислый аммоний образуется много щелочи. Поэтому реакцию следует производить в присутствии буферного раствора, благодаря которому pH в течение всего процесса не изменяется и остается слабо щелочным. Буферным раствором служит фосфатная смесь: 69 г однозамещенного фосфорнокислого натрия ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) и 109 г кристаллического двузамещенного фосфорнокислого натрия ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) растворяют при нагревании в 800 см<sup>3</sup> воды; по охлаждении, если нужно, фильтруют, доливают водой до 1 л и прибавляют несколько кубических сантиметров толуола; 5) стандартный раствор: 0,118 г сернокислого аммония, высушенного в эксикаторе до постоянного веса, растворяют в 1 л воды; 1 см<sup>3</sup> этого раствора содержит 0,025 мг азота; 6) реактив Несслера, как при определении азота колориметрически.

Оборудование: 1) несколько сухих колб и пробирок; 2) несколько пипеток Мора на 1 и 2 см<sup>3</sup>; 3) бюретка для отмеривания воды; 4) калориметр Аутенрита или другой.

Ход определения. При осаждении белков по Фолину (старый способ) к 1 части крови прибавляют 7 частей воды, 1 часть вольфрамОВОКислого натрия (1) и 1 часть серной кислоты (2) в указанном порядке. В колбочку отмеривают 14 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, набирают в пипетку Мора 2 см<sup>3</sup> крови (оксалатной) и осторожно спускают ее на дно колбы, стараясь не взболтать всего содержимого колбы. Если это удастся, то над слоем крови остается слой чистой воды, которой несколько раз ополаскивают пипетку. Оставляют стоять 15—20 минут до полного растворения эритроцитов. Прибавляют 2 см<sup>3</sup> вольфрамОВОКислого натрия и смешивают; прибавляют медленно по каплям серную кислоту, все время взбалтывая; если осаждение белков произведено правильно, жидкость становится совершенно непрозрачной, светлокрасного цвета, без пены (единичные крупные пузыри). Оставляют стоять 5—10 минут; за это время цвет жидкости переходит в коричнево-красный. Если цвет не изменился или жидкость сильно пенится, то это указывает на неполное осаждение белков вследствие избытка щавелевокислого калия. Можно попытаться спасти исследование, прибавляя по каплям 10% серную кислоту и тщательно взбалтывая и наблюдая после прибавления каждой капли. Фильтруют сквозь довольно плотный фильтр в сухую пробирку или колбочку; сначала наливают на фильтр немного жидкости, затем всю остальную. Фильтрат должен быть прозрачным и бесцветным.

К 5 см<sup>3</sup> фильтрата прибавляют 2 капли буферной смеси (4) и 1 см<sup>3</sup> уреазы (3). Смесь нагревают на водяной бане при 55° 15—30 минут.



После пребывания смеси кровяного фильтрата, буферного раствора и уреазы в водяной бане ее подвергают перегонке. Аппарат для перегонки не трудно устроить самому. Берут три больших пробирки или цилиндра с плотно пригнанными резиновыми пробками. В каждой из пробок имеется два отверстия, через которые проходят стеклянные трубки, согнутые под углом. Одна из трубок заканчивается непосредственно под пробкой, другая доходит почти до дна цилиндра и заканчивается маленьким шарообразным расширением с 6—8 отверстиями. Пробирки соединены между собой таким образом, что короткая трубка первой пробирки соединена посредством резиновой трубки с длинной трубкой второй, которая в свою очередь таким же образом соединена с третьей пробиркой. В первую из пробирок (промывательную склянку) наливают немного 10% серной кислоты (около  $\frac{1}{3}$  пробирки), которая поглощает аммиак из поступающего в нее воздуха. Во вторую пробирку переносят испытуемый раствор. На резиновых трубках, надетых на стеклянные трубки этой пробирки, имеются зажимы. В третью пробирку наливают 2 см<sup>3</sup> п/20 соляной кислоты и 18 см<sup>3</sup> воды. Когда аппарат собран, в испытуемый раствор прибавляют 2 см<sup>3</sup> раствора едкого натра и 1—2 капли амлового спирта (во избежание пены) или жидкого парафина. Короткую трубку третьей пробирки соединяют с водоструйным насосом и открывают зажимы второй пробирки. Воздух поступает в первую пробирку через трубку, погруженную в серную кислоту, где освобождается от аммиака: затем он поступает таким же образом во вторую пробирку, где проходит в испытуемую жидкость, увлекает за собой аммиак и поступает в третью пробирку, в которой аммиак поглощается соляной кислотой. Воздух пропускают в течение 30 минут. После этого в жидкость прибавляют несслеровский реактив и колориметрируют в любом колориметре. Лучше также определить количество перегнанного в третий цилиндр аммиака титриметрически, как было указано для определения остаточного азота.

Способы с уреазой дают хорошие результаты, однако, к сожалению, трудно достать хороший, вполне активный фермент; поэтому во многих лабораториях определяют мочевины, как изложено ниже.

2) По способу с бромистой щелочью. Принцип тот же, что и при определении мочевины в моче по способу Бородина (см. отдел «моча», стр. 354).

Реактивы: 1) насыщенный солевой раствор: 150 г сернокислого калия и 350 г хлористого натрия кипятят в 1 л воды и по охлаждении фильтруют; 2) 10% раствор трихлоруксусной кислоты; 3) 33% раствор едкого натра; 4) бромистый щелок: каждый раз перед употреблением отмеривают в пробирку 10 см<sup>3</sup> щелочи (3) и прибавляют 20 капель чистого брома (под тягой); смешивают, переливая смесь несколько раз из одной пробирки в другую.

Оборудование. Прибор для расщепления мочевины и измерения объема образовавшегося азота представляет U-образную стеклянную трубку, оба колена которой снабжены стеклянными кранами. Кран в верхней трети левого колена позволяет разобщать верхнюю часть трубки от остальной ее части. Часть над краном градуирована и служит для отмеривания исследуемой жидкости и приливаемых реактивов. Трубка под краном также градуирована и служит для измерения объема газа; часть ее непосредственно под краном значительно сужена и градуирована на 0,02 см<sup>3</sup>. Кран в нижней части правого колена трехходовой. При его повороте получают три установки: 1) правое и левое колена сообщаются, причем жидкость из отводной трубки правого



колена не вытекает; 2) колена разобщены, жидкость из правого колена вытекает; 3) колена разобщены, жидкость из правого колена не вытекает.

На кране обычно имеется метка, позволяющая контролировать установку (рис. 77).

Ход определения. Отмеривают 3—4 см<sup>3</sup> оксалатной крови или сыворотки, приливают равный объем трихлоруксусной кислоты, тщательно размешивают стеклянной палочкой и центрифугируют или фильтруют через маленький фильтр. Открывают кран левого колена аппарата. Устанавливают трехходовой кран в первом положении. В правое колено наливают солевой раствор до тех пор, пока он не появится слева над краном. Левый кран закрывают, солевой раствор из трубки над краном отсасывают пипеткой, трубку высушивают фильтровальной бумагой. Трехходовому крану придают второе положение (колена разобщены) и спускают солевой раствор из правого колена больше чем наполовину. Переводят трехходовой кран в первое положение (колена сообщаются). Вливают в трубку левого колена над краном точно 2,5 см<sup>3</sup> фильтра и, открыв кран, спускают все, после чего кран вновь закрывают. Вливают в верхнюю трубку 0,5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, которую спускают туда же. Закрыв верхний кран, вливают в верхнюю трубку бромистый щелок и спускают несколько кубических сантиметров его в нижнюю часть. Кран тщательно закрывают. Тотчас начинается процесс расщепления мочевины. Образующийся газ вытесняет часть солевого раствора из левого колена в правое, и уровень его в правом колене повышается. Важно, чтобы он не был выше уровня жидкости в левом колене; в противном случае надо часть его вновь спустить (положение крана 2).

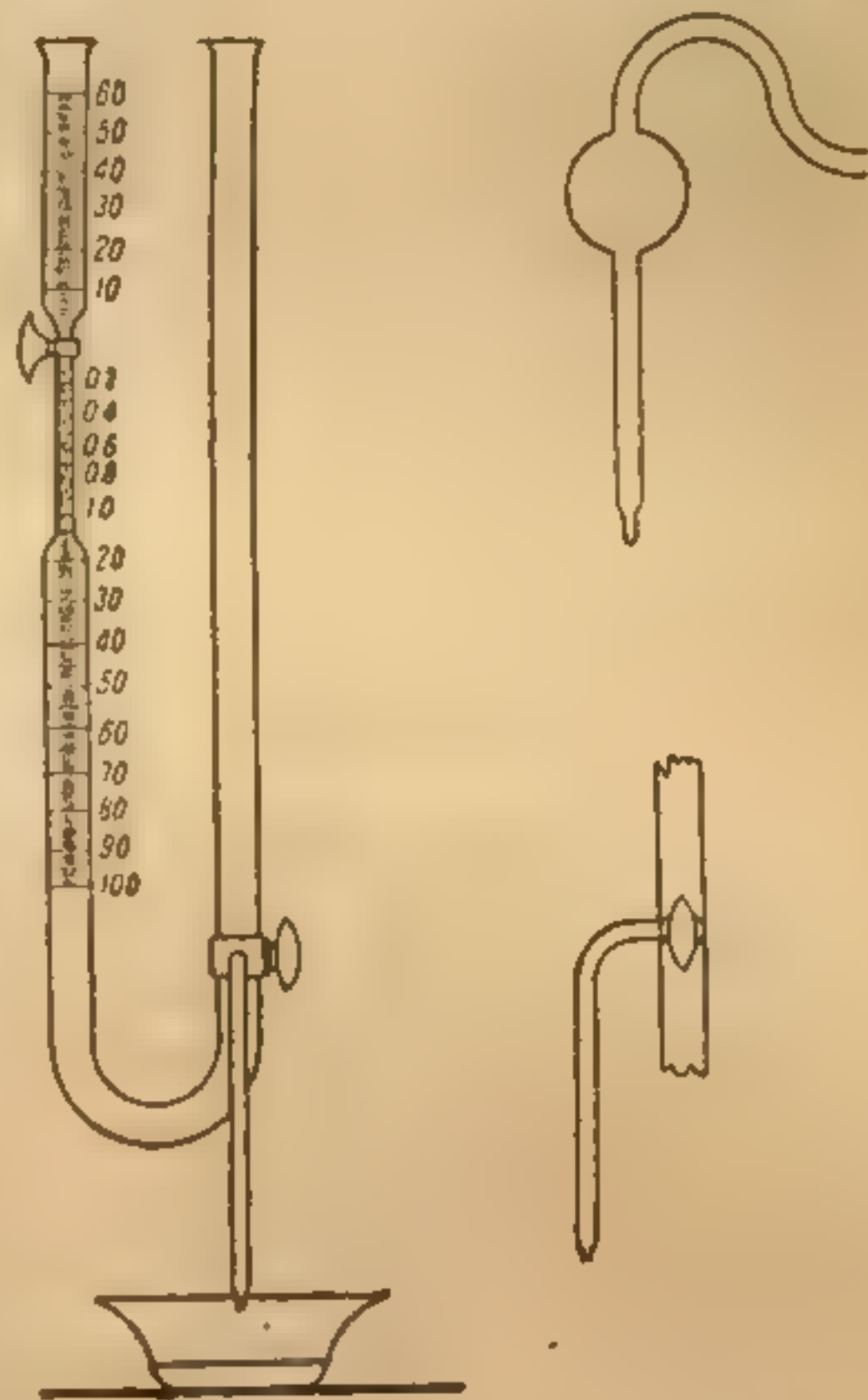


Рис. 77. Прибор Коварского.

Выжидают 10 минут, пока образование пузырьков совершенно прекратится и газ примет температуру окружающего воздуха. Приставшие к стенкам пузырьки постукиванием по стеклу присоединяют к общему объему газа. Разобщают оба колена (положение второе) и, вынув аппарат из штатива, осторожным наклоном его собирают все мельчайшие пузырьки, после чего, восстановив сообщение между коленами (положение первое), приливают в правое колено солевой раствор, если он ниже, до одинакового уровня с левым; если же солевой раствор выше, то, разобщив колена, выливают его излишек, после чего отмечают объем газа.

Количество мочевины определяется по таблице, составленной Коварским (табл. 32). Необходимо учитывать барометрическое давление (первый вертикальный столбец) и температуру в комнате (первый горизонтальный столбец). На пересечении находят число, на которое следует умножить найденный объем азота. Результат обозначает количество граммов мочевины в 1 000 см<sup>3</sup> крови; его, однако, указывают обычно в миллиграмм-процентах.

Кровь здорового человека содержит 15—20 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> мочевины. Количество более 20 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> можно считать патологическим. Диагностическое значение повышения количества мочевины то же, что и для остаточного азота.



Таблица 32

**Определение мочевины по Коварскому**  
(1 см<sup>3</sup> азота соответствует граммам мочевины в 1 л)

Давление в мм ртутного столба	Температура								
	10°	12°	14°	16°	18°	20°	22°	24°	25°
	Количество мочевины в 1 л, соответствующее 1 см <sup>3</sup> азота (в г)								
710	1,91	1,90	1,88	1,86	1,84	1,83	1,81	1,80	1,78
720	1,94	1,92	1,91	1,89	1,87	1,85	1,84	1,82	1,80
725	1,95	1,93	1,92	1,90	1,89	1,87	1,85	1,83	1,82
730	1,97	1,94	1,93	1,91	1,90	1,88	1,87	1,85	1,83
735	1,98	1,96	1,94	1,93	1,91	1,89	1,88	1,86	1,84
740	1,99	1,97	1,96	1,94	1,92	1,90	1,89	1,87	1,86
745	2,01	1,99	1,98	1,96	1,94	1,92	1,91	1,88	1,87
750	2,02	2,00	1,99	1,97	1,95	1,93	1,92	1,90	1,88
755	2,04	2,02	2,00	1,98	1,96	1,95	1,93	1,92	1,90
760	2,05	2,03	2,01	2,00	1,98	1,96	1,95	1,93	1,91
765	2,06	2,05	2,03	2,01	1,99	1,97	1,96	1,94	1,92
770	2,08	2,06	2,04	2,02	2,00	1,98	1,97	1,95	1,93

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРЕАТИНИНА И КРЕАТИНА

1) **Определение по Фолину.** Принцип. Креатинин дает со щелочным раствором пикриновой кислоты красноватое окрашивание, интенсивность которого сравнивают в калориметре с интенсивностью окраски одновременно и одинаковым образом обработанного стандартного раствора чистого креатинина.

Реактивы: 1 и 2) реактивы для осаждения белков крови по новому способу Фолина; 3) основной стандартный раствор креатинина: 1 г креатинина или 1,602 г хлор-цинк-креатинина растворяют в 1 л п/10 раствора соляной кислоты; этот раствор в хорошо закупоренном флаконе можно хранить долгое время; 3а) рабочий стандартный раствор: готовят перед употреблением из основного, отмеривая 1 см<sup>3</sup> в мерную колбу емкостью в 100 см<sup>3</sup>, и после добавления 10 см<sup>3</sup> соляной кислоты доводят водой до метки; 1 см<sup>3</sup> этого раствора содержит 0,01 мг креатинина; 4) 2% раствор едкого натра; 5) насыщенный раствор пикриновой кислоты: растворяют в 100 см<sup>3</sup> воды 1,2 г сухого или 1,5 г продажного препарата, который содержит около 20% воды. Пикриновая кислота всегда содержит примеси, которые вносят большую ошибку в определение креатинина; поэтому ее необходимо очистить. Подлежат очистке и препараты пикриновоекислого натрия. Пикриновую кислоту сушат в вакуум-эксикаторе или на воздухе в сушильном шкафу при 80—90°; 100 г высушенной пикриновой кислоты растворяют при нагревании в 150 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты и нагревают раствор при постоянном помешивании на электрической плитке до кипения. Фильтруют горячий раствор сквозь складчатый фильтр через предварительно нагретую воронку; накрывают сосуд с фильтратом часовым стеклом и оставляют стоять до следующего утра. Если кристаллы еще не выпали, то сильно взбалтывают раствор или вносят в него несколько кристалликов пикриновой кислоты. Через 2 часа отфильтровывают кристаллы сквозь уплотненный фильтр, вложенный в воронку Бюхнера, соединенную с водоструйным насосом, промывают приблизительно 35 см<sup>3</sup> холодной ледяной уксусной кислоты, переносят в фарфоровую чашку и высушивают при 80—90°, несколько раз поме-



шивая стеклянной палочкой, пока не исчезнет запах уксусной кислоты. Выход составляет около 60 г чистой пикриновой кислоты

Испытание препарата пикриновой кислоты: к 10 см<sup>3</sup> насыщенного раствора пикриновой кислоты прибавляют 5 см<sup>3</sup> 10% раствора едкого натра и оставляют стоять 10 минут. Цвет этого щелочного раствора пикриновой кислоты не должен быть много темнее (не больше чем в 2 раза), чем первоначальный раствор пикриновой кислоты. Более резкое потемнение указывает на присутствие в препарате примесей, которые мешают определению креатинина.

Если предполагается работа в большом масштабе, то лучше приготовить пикриновокислый натрий. Растворяют 500 г пикриновой кислоты в большой колбе в 500 см<sup>3</sup> ацетона, взбалтывая и слегка нагревая в теплой водяной бане; прибавляют 20 г животного угля, взбалтывают, фильтруют; во время фильтрования прикрывают воронку часовым стеклом, чтобы ацетон не испарялся. Растворяют отдельно в большом стакане 250 г безводного углекислого натрия и 100 г хлористого натрия; в этот раствор прибавляют постепенно ацетоновый раствор, не прекращая помешивания. Когда выделение углекислоты прекратится, ставят на 30 минут в холодную воду и затем фильтруют сквозь большую (диаметр 20 см) бюхнеровскую воронку. Осадок промывают приблизительно 2 л 70% раствора хлористого натрия; отсасывают возможно суше. Полученный осадок пикриновокислого натрия рекомендуется еще раз перекристаллизовать; его вносят в большой стакан, наливают туда же 2 л кипящей воды и прибавляют 20 г безводного углекислого натрия, охлаждают, фильтруют, промывают на фильтре 7% раствором хлористого натрия, как в первый раз, затем 2 раза 2% раствором хлористого натрия и 1 раз метиловым спиртом для удаления остатков хлористого натрия и воды. Высушивают при комнатной температуре. Проверка чистоты полученного препарата: готовят из него 3% раствор и отмеривают 5 и 10 см<sup>3</sup> этого раствора в 2 градуированные пробирки емкостью в 25 см<sup>3</sup>. В каждую пробирку приливают воды приблизительно до 22 см<sup>3</sup>, вносят туда же по 2 см<sup>3</sup> 5% раствора едкого натра, доводят водой до метки, смешивают, оставляют стоять 10 минут. Прибавляют по 4 г хлористого калия в порошке, смешивают переворачиванием пробирок в течение около 1 минуты, фильтруют сквозь беззольный фильтр диаметром 9 см и сравнивают интенсивность окраски того и другого фильтрата в колориметре: если полученный препарат хорошего качества, то окраска обоих фильтратов одинакова.

Ход определения. При работе с цельной кровью осаждают белки по новому способу Фолина; это дает разведение в 10 раз. При работе с плазмой или сывороткой желательно иметь более концентрированные растворы: к 5 см<sup>3</sup> плазмы или сыворотки прибавляют 10 см<sup>3</sup> воды, 5 см<sup>3</sup> 5% раствора вольфрамовокислого натрия и 5 см<sup>3</sup> п/3 раствора серной кислоты; смешивают, фильтруют. Получается пятикратное разведение. Отмеривают в сухую пробирку 10 см<sup>3</sup> безбелкового фильтрата, а в две другие пробирки 2 и 4 см<sup>3</sup> рабочего стандартного раствора (3а) и приливают до 20 см<sup>3</sup> воды. Прибавляют в оба стандартных раствора по 2 см<sup>3</sup> пикриновой кислоты (5) и по 2 см<sup>3</sup> щелочи (4), а к фильтрату — по 1 см<sup>3</sup> того и другого реактива; смешивают повторным переворачиванием пробирок; оставляют стоять не менее 30 минут, а если окраска фильтрата значительно темнее, чем окраска даже более концентрированного стандарта, то выжидают около 1 часа. Если все же окраска фильтрата значительно темнее, чем окраска стандарта, то его разбавляют в 2 раза: прибавляют 10 см<sup>3</sup> воды, 1 см<sup>3</sup> пикрата (5) и 1 см<sup>3</sup>



щелочи (4) и вновь смешивают. Колориметрируют при рассеянном дневном свете.

Вычисление. При пользовании более слабым стандартом (2 см<sup>3</sup>) содержание креатинина в 100 мг крови равно  $\frac{B_{ст}}{B_x}$  мг; при пользовании более концентрированным стандартом эту величину умножают на 2, а если фильтрат был разбавлен в 2 раза, то умножают на 4 ( $B_{ст}$  — стояние стандартного раствора и  $B_x$  — стояние исследуемого раствора в колориметре).

Определение суммы креатинина и креатина. Отмеривают в градуированную пробирку емкостью в 25 см<sup>3</sup> 5 см<sup>3</sup> безбелкового фильтрата, прибавляют 1 мл соляной кислоты, закрывают устье пробирки листком фольги и нагревают в автоклаве при 130° в течение 20 минут или при 155° в течение 10 минут; охлаждают. В две такие же пробирки отмеривают 4 и 8 см<sup>3</sup> рабочего стандартного раствора (1а) и приливают в каждую по 2 см<sup>3</sup> п/10 раствора соляной кислоты. Добавляют воды до 18 см<sup>3</sup> (приблизительно). Приливают во все пробирки по 2 см<sup>3</sup> пикрата (5) и по 2 см<sup>3</sup> щелочи (4), доводят водой до метки, смешивают и дальше поступают так, как было описано выше.

Вычисление. При вычислении учитывают, что для исследования было взято 5 см<sup>3</sup> безбелкового фильтрата, что (при разведении для осаждения белков в 10 раз) соответствует 0,5 см<sup>3</sup> исходного материала; следовательно, чтобы получить содержание креатинина + креатин в мг на 100 см<sup>3</sup> крови, надо  $\frac{B_{ст}}{B_x}$  умножить на 200. Далее, пробирка с более слабым стандартным раствором содержала 0,04 мг, с более концентрированным раствором — 0,08 мг креатинина.

Чтобы вычислить количество креатинина, вычитают из цифры, выражающей сумму креатинина и креатина, цифру, соответствующую одному креатинину. Разность соответствует креатинину, образовавшемуся из креатинина в результате гидролиза. Чтобы вычислить отсюда количество креатина, нужно полученное число умножить на 1,16.

2) **Диагностическое значение.** Количество креатинина в нормальной крови колеблется в весьма незначительных пределах — от 1,0 до 2,0 мг%; у одного и того же человека эти колебания в различные дни и при различных условиях еще меньше. В то же время уже незначительные степени почечной недостаточности вызывают повышение количества креатинина иногда раньше, чем остаточного азота (например, при нефросклерозе с только начинающейся недостаточностью почек, при острых нефритах или нефрозах), так что определение количества креатинина может считаться точным показателем почечной недостаточности.

Кроме определения количества креатинина, некоторое диагностическое значение может, повидимому, иметь креатиновый показатель, предложенный французскими клиницистами. Нормальная сыворотка содержит в среднем в 100 см<sup>3</sup> 1,5 мг креатинина и 1,5 мг креатина.

Отношение  $\frac{\text{креатинин}}{\text{креатинин} + \text{креатин}}$ , следовательно, в норме соответствует 0,5. При нарушении функции почек (см. главу «Функциональные пробы почек») концентрация креатинина и креатина в крови повышается приблизительно в одинаковой степени и параллельно повышению концентрации мочевины в той же сыворотке. При некоторых видах острого гепатонефрита (спирохетозе, злокачественной дифтерии) количество креатина увеличивается больше, чем количество креатинина, так что показатель уменьшается; то же наблюдается при обширных ожогах, гипертермиях, сильном мышечном утомлении, прогрессирующих миопатиях, паркинсоновском синдроме, резком истощении и некоторых других состояниях.



## КСАНТОПРОТЕИНОВАЯ РЕАКЦИЯ

Принцип. Ароматические вещества, образующиеся из бензола и индола, нитрируются азотной кислотой при нагревании, вследствие чего получается пожелтение сыворотки, особенно резкое при щелочной реакции.

Реактивы: 1) 20% раствор трихлоруксусной кислоты; 2) концентрированная азотная кислота удельного веса 1,4; дымящаяся азотная кислота непригодна; 3) 33% раствор едкого натра по возможности без карбонатов; 4) основной стандартный раствор: отвешивают на аналитических весах 0,3874 двуххромовокислого калия ( $K_2Cr_2O_7$ ), растворяют в мерной колбе в 100 см<sup>3</sup> воды; этот раствор при хранении в темной склянке неограниченно стоек; из него готовят рабочий стандартный раствор, для чего разводят его в 10 раз; стойкость этого раствора тоже довольно велика. Этим раствором наполняют клин колориметра; по окончании рабочего дня его выливают, иначе со временем в углах образуется желтый осадок, изменяющий цвет раствора. Смыть осадок можно ополаскиванием клина 10% раствором едкого натра, затем водой, спиртом и эфиром.

Оборудование: 1) пробирка градуированная, выдерживающая кипячение; 2) колориметр Аутенрита; 3) пипетка на 2 см<sup>3</sup>.

Ход определения. Реакцию желательно производить в сыворотке, так как ароматические вещества накапливаются в ней, а не в клетках, и при работе с цельной кровью получаются более низкие цифры, притом зависящие от состава крови. Поэтому с цельной кровью работают только, если сыворотки было бы слишком мало, учитывая, что истинное содержание ароматических кислот выше полученного. Для реакции нужно 2 см<sup>3</sup> фильтрата. Отмеривают в пробирку 5 см<sup>3</sup> сыворотки (можно ограничиться и меньшим количеством), прибавляют равное количество трихлоруксусной кислоты (1) и фильтруют сквозь маленький фильтр в градуированную пробирку. К 2 см<sup>3</sup> прозрачного фильтрата добавляют 0,5 см<sup>3</sup> концентрированной азотной кислоты и кипятят около 30 секунд; по охлаждении под водопроводом приливают 1,5 см<sup>3</sup> едкого натра (3). Если имеется легкая муть, ее отфильтровывают; так как при нагревании часть жидкости испарилась, прибавляют несколько капель воды, чтобы довести до метки (до 4 см<sup>3</sup>). Сравнение необходимо производить при дневном освещении. При нормальной функции почек одинаковая окраска получается при положении клина между 85 и 75 (при положении нулевой точки вверху шкалы); если его приходится опускать до 60—50, то имеется легкая степень почечной недостаточности; при еще более интенсивной окраске пробы — более тяжелая недостаточность, при 10—0 — тяжелая недостаточность с истинной уремией.

Если крови мало, то можно произвести реакцию с 1 см<sup>3</sup> сыворотки. Прибавляют 1 см<sup>3</sup> трихлоруксусной кислоты, фильтруют, обрабатывают весь фильтрат, как было указано, но не доводят водой до 4 см<sup>3</sup> и не колориметрируют, а по прибавлении едкого натра обозначают степень пожелтения крестами (от + до + + + +).

Диагностическое значение. Количество ароматических веществ в крови повышается главным образом при поражении канальцев. При остром нефрите оно повышается меньше, чем мочевины и мочевины; при сморщенной почке иногда наблюдается обратное соотношение или же мочевины и мочевины кислоты задерживаются сильнее, чем ароматические вещества; но разница эта значительно меньше, чем при остром нефрите, где ксантопротеиновая реакция может быть слабо поло-



жительной при значительной задержке азотистых веществ. Если при остром нефрите без ясного уменьшения количества мочи ксантопротеиновая реакция становится резко положительной, то это может указывать на переход в подострую форму. При резкой олигурии, включая олигурию острого нефрита, ксантопротеиновая реакция всегда резко положительная. При некоторых доброкачественных склерозах ксантопротеиновая реакция остается отрицательной. При очаговых поражениях она отрицательная, если очаги не занимают большей части почечной паренхимы. То же относится и к туберкулезу почек: положительная ксантопротеиновая реакция говорит за распространенное поражение обеих почек.

Положительная ксантопротеиновая проба встречается при отсутствии почечного заболевания после приема больших количеств салициловых препаратов и при отравлении фенолами. То же наблюдается при некоторых заболеваниях печени; количество индикана при этом не повышается, количество азотистых веществ повышается значительно меньше, чем ароматических. Решающее значение ксантопротеиновая проба имеет при распознавании уремии: истинная уремия всегда сопровождается повышением содержания веществ, дающих ксантопротеиновую реакцию.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНДИКАНА

Принцип. Из индоксила и тимола в присутствии соляной кислоты, содержащей полторахлористое железо, образуется индиголигнон, обладающий резко выраженной окраской.

Реакция весьма чувствительна. Граница чувствительности 0,05 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> индикана.

Реактивы: 1) 20% трихлоруксусная кислота для осаждения белков; 2) 5% раствор тимола в 95% спирте; 3) реактив Обермейера: 5 г полторахлористого железа растворяют в 1 л концентрированной соляной кислоты (удельный вес 1,19); 4) хлороформ; 5) стандарт.

Было предложено много разных искусственных стандартов, но все они очень плохо подходят к цвету опыта. Рекомендуемый стандарт, предложенный Л. Т. Марголиной, готовится из мочи, содержащей индикан.

Приготовление стандартных пробирок. Мочу с малым содержанием индикана, определяемого обычной качественной реакцией, разводят в 50, 100 и 200 раз и с каждым из разведений производят реакцию следующим образом: к 1 см<sup>3</sup> разведенной мочи приливают 2 см<sup>3</sup> трихлоруксусной кислоты, 7 капель тимолового спирта, 3 см<sup>3</sup> реактива Обермейера и спустя 1—2 часа еще 2 см<sup>3</sup> хлороформа; смесь сильно взбалтывают. После расслоения жидкостей хлороформный слой окрашен в розовый цвет различной интенсивности. Одновременно обрабатывают таким же способом 1 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Выбирают то разведение, хлороформный экстракт которого по окраске едва заметно отличается от экстракта из воды, и концентрацию индикана в этом разведении принимают за 0,05 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Дальнейшее разведение мочи никакой окраски давать не должно. Затем готовят разведение, в 10 раз более концентрированное, чем то, где получилась слабая окраска (например, если при разведении 1:200 получилась слабая окраска (например, экстракт, эту мочу разводят в 20 раз), и в ряд пробирок одинакового диаметра (около 1,2 см) по возможности бесцветного стекла отмеривают точно 0,1; 0,2; 0,3 и т. д. до 1 см<sup>3</sup> этого разведения; доливают содержимое каждой пробирки дистиллированной водой точно до 1 см<sup>3</sup> и приливают во все пробирки трихлоруксусную кислоту, тимоловый спирт и реактив Обермейера в указанных выше количествах, а спустя 1—2 часа —



по 2 см<sup>3</sup> хлороформа. Сильно взболтав каждую пробирку и дав жидкостям расслоиться, закрывают пробирки плотными корковыми пробками и заливают парафином. Получается серия пробирок с хлороформным экстрактом розового цвета возрастающей интенсивности и соответствующим содержанию 0,05; 0,1; 0,2; 0,3 и т. д. до 1,0 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> индикана. Столб окрашенного реактива над слоем хлороформа отсчитыванию не мешает.

При хранении в холодном месте окраска в течение месяца не меняется.

**Ход определения.** При производстве реакции берут 2 см<sup>3</sup> сыворотки, приливают двойной объем трихлоруксусной кислоты, тщательно размешивают и, дав постоять, фильтруют через маленький фильтр. К 3 см<sup>3</sup> фильтрата (соответствуют 1 см<sup>3</sup> сыворотки) прибавляют 7 капель тимолового спирта и 3 см<sup>3</sup> реактива Обермейера, смешивают хорошо, после двухчасового стояния прибавляют 2 см<sup>3</sup> хлороформа и сильно взбалтывают. Окраску хлороформного экстракта сравнивают с серией стандартных растворов. При этом способе необходимо всего 1,75—2 см<sup>3</sup> сыворотки.

После больших приемов иода хлороформ может окраситься в красноватый цвет, несколько отличный от фиолетового цвета индолигнола, но могущий ввести в заблуждение. Поэтому, если при отрицательной ксантопротеиновой реакции получается положительная проба на индикан, нужно прежде всего выяснить, не принимает ли больной иод.

**Диагностическое значение.** Нормальная кровь содержит от 0,026 до 0,080 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> индикана; при кишечных заболеваниях количество его увеличивается до 0,140 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Таким образом, 0,160 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, а при отсутствии кишечных заболеваний и 0,140 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, безусловно, доказывают недостаточность почек.

Определение индикана в крови имеет большое диагностическое значение, так как содержание его нередко увеличивается раньше, чем количество остаточного азота, и является, таким образом, более ранним признаком угрожающей больному уремии.

Положительный результат пробы на индикан получается также при непроходимости кишок и даже при длительных, тяжелых формах запора. Это повышение индикана, однако, не достигает значительной степени; то же относится и к случаям легочной гангрены.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ

**Принцип.** Мочевая кислота в кровяном фильтрате восстанавливает фосфорновольфрамовый реактив, причем жидкость окрашивается в синий цвет, пригодный для сравнения в колориметре с обработанным таким же образом стандартным раствором мочевой кислоты.

Одна из трудностей при определении мочевой кислоты в крови заключается в том, что продажные препараты вольфрамовокислого натрия обычно загрязнены молибдатами, а кровь содержит вещества (фенолы и др.), которые вступают с ними в реакцию, что отражается на интенсивности конечной окраски. Поэтому в последней модификации описываемого способа рекомендуется сложная процедура для максимального удаления молибдатов из вольфрамовокислого натрия; получаемый после этой обработки реактив более специфичен для мочевой кислоты, и результаты поэтому получаются более близкие к истине. Однако не во всех лабораториях имеется возможность выполнить определение по новому способу; поэтому ниже приведен и прежний способ, хотя получаемые результаты могут иметь только грубо ориентировочное значение.



1) Полумикроопределение. а) По новому способу. Реактивы: 1 и 2) реактивы для осаждения белков по новому способу Фолина; 3) фосфорновольфрамовый реактив для мочевой кислоты. Основной задачей является приготовление раствора (не содержащего следов молибдатов), более специфически реагирующего с мочевой кислотой. Это возможно двумя путями: либо предварительным очищением вольфрамовокислого натрия, либо очищением реактива в процессе его приготовления.

Очищение вольфрамовокислого натрия и приготовление фосфорновольфрамового реактива из очищенного препарата. 1 кг вольфрамовокислого натрия растворяют в 2 л воды, прибавляют медленно, все время помешивая, соляную кислоту, разбавленную пополам водой до почти нейтральной реакции на лакмус. Раствор переносят в большую колбу или бутыл, пропускают через него не слишком сильный ток сероводорода в течение 15—20 минут, закрывают колбу пробкой, оставляют стоять до следующего утра. Молибдаты превращаются в окрашенные сульфосоединения, растворимые в спирте и поэтому не осаждающиеся совместно с вольфрамом при последующей обработке. Раствор переносят в стакан большого размера и прибавляют медленно, все время помешивая, около  $\frac{2}{3}$  его объема 96° спирта; оставляют стоять до следующего дня. Сливают отстоявшуюся жидкость, фильтруют остаток сквозь большую бюхнеровскую воронку, промывают 50% спиртом до получения бесцветного фильтрата. Осадок переносят в стакан емкостью в 4 л, прибавляют 1,5 л дистиллированной воды и около 2 г чистого брома и смешивают. Продолжая помешивание, нагревают на огне, пока не исчезнет избыток брома. Нагревание продолжают и прибавляют насыщенный прозрачный раствор едкого натра до стойкой слабо щелочной реакции с фенолфталеиновой бумагой. Охлаждают; если нужно, фильтруют. Осаждают вновь спиртом так же, как раньше; осадок высушивают. Полученный таким образом препарат не содержит молибдатов; из него готовят фосфорновольфрамовый реактив: 100 г вольфрамовокислого натрия отвешивают в колбу емкостью в 500 см<sup>3</sup>; отдельно растворяют 32—33 см<sup>3</sup> 85% фосфорной кислоты в 150 см<sup>3</sup> воды; переливают этот раствор в первый и смешивают. Кладут в раствор несколько стеклянных бусинок, снабжают колбу обратным холодильником в виде воронки диаметром в 10 см, на которую поставлена наполненная холодной водой колба емкостью в 200 см<sup>3</sup>; нагревают на слабом огне 50—60 минут. Прибавляют несколько капель брома, отгоняют избыток его кипячением, охлаждают и доводят до 500 см<sup>3</sup>. Раствор, если его хранить защищенным от пыли, стоек. Перед тем как начать им пользоваться, необходимо произвести с ним слепой опыт. Пробу выполняют следующим образом: к 5 см<sup>3</sup> воды прибавляют 4 см<sup>3</sup> фосфорновольфрамового реактива и 10 см<sup>3</sup> раствора цианистого натрия (см. ниже). Смешивают, оставляют стоять 15 минут; раствор постепенно желтеет, но с хорошим цианатом не должен давать синеватого окрашивания. Если получится синеватое окрашивание, то прибавляют еще 5 г вольфрамовокислого натрия (из очищенного препарата), кипятят 10—15 минут; если нужно, опять обесцвечивают бромом, охлаждают и доводят до метки.

Приготовление очищенного фосфорновольфрамового реактива. Несколько кристалликов вольфрамовокислого натрия растворяют в небольшом количестве воды и испытывают реакцию раствора на фенолфталеин: раствор должен иметь слабо щелочную реакцию; в противном случае титруют определенное количество препарата п/10 раствором едкого натра, вычисляют, сколько щелочи надлежит прибавить на 100 г препарата, и кипятят отвешенные 100 г с небольшим избытком



щелочи и 150 см<sup>3</sup> воды в колбе емкостью в 500 см<sup>3</sup>. К 20 см<sup>3</sup> фосфорной кислоты приливают 50 см<sup>3</sup> воды и прибавляют этот раствор постепенно, отдельными порциями, все время помешивая, в первый раствор. Взбалтывают, пока не произойдет полного растворения, охлаждают под водопроводным краном. Пропускают в течение 10 минут ток сероводорода. Переносят раствор в делительную воронку емкостью в 500 см<sup>3</sup> и прибавляют отдельными порциями, постепенно, слегка взбалтывая, 150 см<sup>3</sup> спирта. Сильно взбалтывают 7—8 минут; выжидают, пока произойдет разделение на слои, и спускают нижний желтоватый слой во взвешенную заранее колбу емкостью в 500 см<sup>3</sup>; вес его должен быть от 160 до 170 г. Верхний слой выливают, делительную воронку ополаскивают. Первый слой выливают обратно в делительную воронку, прибавляют 100 см<sup>3</sup> воды и 75 см<sup>3</sup> спирта и встряхивают, как первый раз. Спускают нижний слой, который после второго промывания должен быть почти бесцветным, обратно в ту же колбу, ставят на весы и доводят водой приблизительно до 250 г. Сильно кипятят до полного удаления сероводорода (проба бумажкой, смоченной уксуснокислым свинцом); приливают воды до прежнего веса (250 г) и прибавляют 15 см<sup>3</sup> 85% фосфорной кислоты. Кипятят с обратным холодильником в течение часа. Снимают холодильник, прибавляют несколько капель брома и кипятят еще 5 минут для удаления избытка брома. По охлаждении доводят до 500 см<sup>3</sup>; 4) щавелевокислый литий: 50 г углекислого лития и 85 г щавелевой кислоты помещают в стакан емкостью в 3 л; наливают туда же около 1 л горячей (70°) воды; осторожно смешивают, избегая образования большого количества пены и потери реактива; помешивание продолжают, пока не прекратится выделение углекислоты; прибавляют 1 л спирта и фильтруют сквозь бюхнеровскую воронку; 5) раствор цианистого натрия: отвешивают 75 г цианистого натрия в стакан емкостью в 2 л, прибавляют 700 см<sup>3</sup> воды и мешают до полного растворения; прибавляют 300 г мочевины и помешивают; прибавляют 4—5 г окиси кальция, мешают около 10 минут; раствор готов к употреблению не раньше 24 часов; по истечении этого срока реактив фильтруют, прибавляют к фильтрату около 2 г щавелевокислого лития (4), оставляют стоять 10—15 минут, повторно взбалтывая, фильтруют; 6) основной стандартный раствор мочевой кислоты. На аналитических весах отвешивают точно 1 г мочевой кислоты и переносят ее в мерную колбу емкостью в 1 л. Отвешивают отдельно 0,6 г углекислого лития в колбу емкостью в 250 см<sup>3</sup>, приливают около 150 см<sup>3</sup> воды, помешивают, пока не будет достигнуто растворение (около 5 минут); если некоторое количество остается нерастворенным, то лучше раствор отфильтровать. Раствор (или фильтрат) подогревают до 60°; нагревают также мерную колбу, в которой находится мочева кислота, помещая ее под струю горячей воды. Вливают теплый раствор углекислого лития в колбу, ополаскивая им часовое стекло и воронку, приходившие в соприкосновение с мочевой кислотой. Взбалтывают до растворения мочевой кислоты, слегка подогревая колбу струей теплой воды; растворение должно быть закончено в течение 5 минут, после чего колбу с раствором немедленно охлаждают под водопроводным краном. Раствор углекислого лития не вполне прозрачен, несмотря на фильтрование; эту муть не следует ошибочно принимать за нерастворившуюся мочевою кислоту. Прибавляют 20 см<sup>3</sup> 40% формальдегида и наливают до половины колбы дистиллированной воды. Прибавляют несколько капель раствора метилоранжа, набирают в градуированную пипетку емкостью в 25 см<sup>3</sup> нормальную серную кислоту и медленно, все время побалтывая, спускают всю кислоту в рас-



твор. Розовое окрашивание последнего должно появиться, когда в пипетке остается еще 2—3 см<sup>3</sup> серной кислоты. Доводят водой до метки, тщательно взбалтывают, хранят в хорошо закрывающейся склянке в темном месте. Этот основной стандартный раствор мочево́й кислоты содержит 1 мг мочево́й кислоты в 1 см<sup>3</sup>; он стоек (может стоять несколько лет). Из него готовят рабочий стандартный раствор: 1 см<sup>3</sup> основного стандартного раствора отмеривают в мерную колбу емкостью в 250 см<sup>3</sup> и доводят дистиллированной водой до метки. Этот раствор можно хранить не более 4 дней; он содержит в 5 см<sup>3</sup>  $\frac{5}{250}$  мг, или 0,02 мг, мочево́й кислоты.

**Ход определения.** В градуированную пробирку (или колбу) емкостью в 25 см<sup>3</sup> отмеривают 5 см<sup>3</sup> кровавого фильтрата, приготовленного из нелакированной крови по новому способу Фолина; в другую такую же пробирку отмеривают 5 см<sup>3</sup> рабочего стандартного раствора (6). Приливают в обе пробирки по 10 см<sup>3</sup> цианистого натрия (5) (отмеривают его не пипеткой, а цилиндром), смешивают, наклоняя пробирку под углом в 60°. Прибавляют по 4 см<sup>3</sup> фосфорновольфрамового реактива (3); оставляют стоять не менее 20, лучше около 40 минут (можно и дольше) и колориметрируют.

**Вычисление.** Если стандартный раствор поставлен на 20 мм, то содержание мочево́й кислоты в испытуемой крови равно:

$$\frac{0,02 \times 20 \times 200}{B_x} = \frac{20}{B_x} \times 4 \text{ мг}\%,$$

где  $B_x$  — высота стояния испытуемого раствора.

Можно пользоваться для этой цели любым колориметром — Дюбоска, Аутенрита и др. При применении колориметра Аутенрита, если пользуются готовым клином, его следует калибровать снова при смене реактивов. Правильнее одновременно с исследуемой жидкостью обрабатывать теми же реактивами стандартный раствор и наливать его в пустой клин.

**б) По старому способу.** Реактивы: 1 и 2) реактивы для осаждения белков; 3) 20% раствор сернокислого лития; 4) 10% раствор цианистого натрия в n/10 растворе едкого натра; 5) фосфорновольфрамовый реактив: 100 г вольфрамовокислого натрия и 80 см<sup>3</sup> 85% фосфорной кислоты (удельный вес 1,70) растворяют в 750 см<sup>3</sup> воды (приблизительно) и кипятят с обратным холодильником в течение 6—8 часов; по охлаждении доводят дистиллированной водой до 1 л; если окраска реактива темная, то прибавляют (под тягой) 1—2 см<sup>3</sup> брома до просветления, кипятят до исчезновения запаха брома, дают остыть и вновь доводят в мерной колбе до 1 л; цвет реактива бледнозеленовато-желтый; 6) основной стандартный раствор мочево́й кислоты: отвешивают на аналитических весах 1 г химически чистой мочево́й кислоты, переносят в мерную колбу емкостью в 1 л, прибавляют 0,4—0,5 г углекислого лития и 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и ставят на водяную баню при 60° до полного растворения. По охлаждении добавляют 400—500 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и 25 см<sup>3</sup> 40% формалина, смешивают, прибавляют приготовленный заранее и охлажденный раствор 15 см<sup>3</sup> серной кислоты в 100 см<sup>3</sup> воды, снова тщательно смешивают и доводят дистиллированной водой до 1 л. Раствор стоек; рекомендуется, однако, разлить его в несколько небольших флаконов из темного стекла с хорошо пригнанными пробками. Этот основной стандартный раствор содержит в 1 см<sup>3</sup> 1 мг мочево́й кислоты. Из него готовят 1 раз в 10—14 дней рабочий стандартный раствор ба: 1 см<sup>3</sup> первого раствора отмеривают в мерную колбу емкостью в 250 см<sup>3</sup>.



наполненную до половины водой, приливают 10 см<sup>3</sup>  $\frac{2}{3}$  п серной кислоты и 1 см<sup>3</sup> формалина и по охлаждении доводят водой до метки; 5 см<sup>3</sup> этого раствора содержат 0,02 мг мочевого кислоты.

Ход определения. 5 см<sup>3</sup> безбелкового фильтрата крови отмеривают в пробирку, а в другую — 5 см<sup>3</sup> рабочего стандарта мочевого кислоты (6а). В обе пробирки прибавляют по 2 см<sup>3</sup> воды, по 2 см<sup>3</sup> цианистого натрия (4) (из бюретки или цилиндрика), по 3—4 капли сернистого лития (3) и по 1 см<sup>3</sup> фосфорновольфрамового реактива. Каждый реактив прибавляют по возможности одновременно в одну и другую пробирку. Оставляют стоять при комнатной температуре 2 минуты, переносят на 80 секунд в заранее приготовленную кипящую водяную баню и затем в стакан с холодной водой и по охлаждении колориметрируют.

Можно пользоваться любым колориметром (см. первый способ).

2) Микроспособ определения по Бенедикту. Принцип тот же.

Реактивы: 1 и 2) реактивы для осаждения белков по старому способу Фолина (стр. 157); 3) раствор цианистого натрия: к 1 л 2,8% водного раствора цианистого натрия прибавляют 1,5 см<sup>3</sup> концентрированного аммиака; раствор нестойкий; 4) фосфорновольфрамовый реактив по Бенедикту: 100 г вольфрамнокислого натрия растворяют в 600 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, прибавляют 50 г мышьякового ангидрида (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), 25 см<sup>3</sup> 85% фосфорной кислоты (удельный вес 1,7) и 20 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты (удельный вес 1,19); реактивы прибавляют в том порядке, в каком они здесь перечислены. Полученную смесь кипятят 20 минут, охлаждают, доливают воды до 1 л; раствор неограниченно стойкий; 5) основной стандартный раствор мочевого кислоты по Бенедикту: 9 г кристаллического двузамещенного фосфорнокислого натрия (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O) и 1 г однозамещенного фосфорнокислого натрия (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O) растворяют в 200 см<sup>3</sup> горячей дистиллированной воды, если нужно, фильтруют, так как раствор должен быть совершенно прозрачным, и доливают горячей дистиллированной водой приблизительно до 600 см<sup>3</sup>. В мерную колбу емкостью в 1 л отвешивают точно 200 мг мочевого кислоты, приливают несколько кубических сантиметров дистиллированной воды и наливают горячий раствор фосфатов. Взбалтывают, причем мочева кислота растворяется, охлаждают под водопроводом, прибавляют 1,4 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты и доливают до метки. К готовому раствору прибавляют 5 см<sup>3</sup> хлороформа. Раствор не изменяется в течение нескольких месяцев. 5 см<sup>3</sup> этого раствора содержат 1 мг мочевого кислоты. Из него готовят рабочий стандартный раствор: 10 см<sup>3</sup> первого раствора отмеривают в колбу емкостью в 500 см<sup>3</sup>, приливают 25 см<sup>3</sup> 3,6% соляной кислоты и доливают водой до метки. Раствор можно хранить не более двух недель; 1 см<sup>3</sup> его содержит 0,004 мг мочевого кислоты.

Ход определения. 0,2 см<sup>3</sup> крови (из укола в мякоть пальца) выдувают в пробирку для центрифуги с 1,4 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и при помощи тонкой стеклянной палочки смешивают. Прибавляют 0,2 см<sup>3</sup> 10% раствора вольфрамнокислого натрия и 0,2 см<sup>3</sup>  $\frac{2}{3}$  п H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, тщательно смешивают и спустя 10 минут фильтруют сквозь маленький фильтр или центрифугируют. Для дальнейшей обработки отмеривают в пробирку 1 см<sup>3</sup> прозрачного фильтрата (= 0,1 см<sup>3</sup> крови), а во вторую пробирку 1 см<sup>3</sup> рабочего стандартного раствора мочевого кислоты. В обе пробирки прибавляют по 1,8 см<sup>3</sup> цианистого натрия (3) и по 0,2 см<sup>3</sup> фосфорновольфрамового реактива (4), тотчас переносят на 3 минуты в заранее доведенную до кипения водяную баню, по истечении этого времени погружают в стакан с холодной водой и еще через 3 минуты колориметрируют.



Вычисление. Содержание мочевой кислоты в крови в мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>:

$$\frac{0,004 \times B_{\text{ст}} \times 1000}{B_x} = B_{\text{ст}} \times 4,$$

где  $B_{\text{ст}}$  — высота стояния стандартного раствора в колориметре,  $B_x$  — высота стояния исследуемого раствора.

Все способы определения мочевой кислоты, включая и хорошо разработанные, не отличаются точностью; часть мочевой кислоты теряется уже при осаждении белков, которые увлекают ее в осадок. Указываемые нормальные величины всегда относятся только к тому способу, посредством которого они были получены.

3) **Диагностическое значение.** При определении мочевой кислоты по изложенному выше способу Фолина в нормальной крови определяется от 2,5 до 4 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Среднее количество мочевой кислоты, превышающее 5 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, при пользовании обычной диетой можно уже считать повышенным. Так как, однако, уровень мочевой кислоты иногда временно поднимается, в зависимости от состава пищи и других моментов, то однократному исследованию нельзя придавать диагностического значения, даже если найденная величина превышает 6—7 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Исследование крови на мочевую кислоту следует производить после того, как испытуемый несколько дней не получает пищи, содержащей сколько-нибудь значительного количества пуриновых оснований и в первую очередь жиров: жирная пища повышает количество мочевой кислоты в крови еще в большей степени, чем пурины.

При подагре количество мочевой кислоты в крови обычно выше нормального или на верхней границе нормы и не всегда снижается после беспуриновой пищи; при нагрузке мочевой кислотой (в виде пищи, содержащей много пуриновых оснований, например, зобной железы, печени) количество мочевой кислоты у здоровых повышается незначительно — на 0,1 — 0,2 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, у подагриков же в более резкой степени — до 2 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

Значение определения количества мочевой кислоты для функционального исследования почек см. стр. 412.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХОЛЕСТЕРИНА

1) **По способу Аутенрита и Функа.** Принцип. Раствор холестерина в хлороформе дает с уксусным ангидридом и серной кислотой зеленое окрашивание, интенсивность которого измеряют в колориметре Аутенрита по отношению к специальному клину; или же одновременно обрабатывают стандартный раствор холестерина и наполняют им пустой клин, или сравнивают интенсивность окраски обработанного стандарта и крови в колориметре Дюбоска.

Требуемое количество крови: 1 см<sup>3</sup> сыворотки (2,5—3,5 см<sup>3</sup> крови).

Реактивы: 1) 25% раствор едкого кали или натра; 2) чистый сухой хлороформ; 3) безводный сернокислый натрий; 4) уксусный ангидрид (CH<sub>3</sub>CO.O.CO.CH<sub>3</sub>); 5) концентрированная серная кислота; 6) стандартный раствор холестерина: 0,1 г холестерина растворяют в 100 см<sup>3</sup> хлороформа; 1 см<sup>3</sup> = 1 мг холестерина. При хранении в хорошо закупоренной темной склянке в прохладном месте раствор стоек.

Оборудование: 1) точная пипетка емкостью в 1 см<sup>3</sup>; 2) мерная колба емкостью в 25 см<sup>3</sup>; 3) обыкновенная колбочка емкостью в 50—60 см<sup>3</sup> и эрленмейеровская колбочка емкостью в 30 см<sup>3</sup>; 4) делительная воронка емкостью около 50 см<sup>3</sup>; 5) колориметр Аутенрита или Дюбоска.



Ход определения. Отмеривают 1 см<sup>3</sup> сыворотки в эрленмейеровскую колбочку емкостью около 30 см<sup>3</sup>, приливают 10 см<sup>3</sup> едкого кали (1), тщательно смешивают и ставят на 6—8 часов в кипящую баню; в течение этого времени несколько раз взбалтывают. По истечении этого срока жидкости дают остыть и переливают ее без потери в делительную воронку емкостью около 50 см<sup>3</sup>, ополаскивают колбочку 10 см<sup>3</sup> хлороформа и сливают его тоже в делительную воронку. Сильно взбалтывают, выжидают, пока слой хлороформа осядет, и спускают его в совершенно сухую колбочку. К жидкости в делительной воронке приливают еще 8 см<sup>3</sup> хлороформа, снова сильно взбалтывают и сливают оставшийся хлороформ в ту же колбочку. Промывание несколькими кубическими сантиметрами хлороформа повторяют еще раз и присоединяют эту хлороформную вытяжку к предыдущим. Хлороформные вытяжки в колбочке оказываются мутными вследствие присутствия воды: всыпают в колбу около 5 г безводного сернокислого натрия, поглощающего воду, и сильно взбалтывают, после чего жидкость сразу просветляется. Фильтруют сквозь сухой фильтр в сухую мерную колбу емкостью в 25 см<sup>3</sup>, ополаскивают колбочку небольшим количеством хлороформа, приливают его в мерную колбу и доливают хлороформом до метки. Отмеривают в пробирку 5 см<sup>3</sup> хлороформной вытяжки, приливают 1 см<sup>3</sup> уксусного ангидрида и 0,1 см<sup>3</sup> серной кислоты, смешивают. Точно так же обрабатывают (если нет готового клина) стандартный раствор (6): 2 см<sup>3</sup> раствора (2 мг холестерина) отмеривают в мерную колбочку емкостью в 25 см<sup>3</sup>, доливают хлороформом до метки, берут 10 см<sup>3</sup>, прибавляют 2 см<sup>3</sup> уксусного ангидрида и 0,2 см<sup>3</sup> серной кислоты, смешивают. Обе пробирки переносят на 15 минут в водяную баню при 32—35° без доступа света и колориметрируют.

Вычисление — по общим правилам колориметрии.

При патологических состояниях, сопровождающихся увеличением количества холестерина, готовый клин (обязательно калибровать!), приложенный к колориметру Аутенрита, может оказаться недостаточным. В таком случае повторяют последнюю часть определения: из мерной колбочки берут не 5 см<sup>3</sup>, а меньше, например, 2,5 см<sup>3</sup>, доливают хлороформом до 5 см<sup>3</sup> и дальше поступают, как было описано. При вычислении вносят соответствующую поправку.

При тщательном выполнении этот способ определения холестерина дает удовлетворительные для клинических целей, сравнимые между собой результаты.

2) По способу Энгельгардта и Смирновой. Этот способ имеет те преимущества, что для него требуется меньшее количество сыворотки (0,1 см<sup>3</sup> или 0,2 см<sup>3</sup>, если ставят два параллельных определения), так что можно в случае нужды ограничиться взятием крови из пальца. Можно также произвести все определение в 0,1 см<sup>3</sup> цельной крови, но количество холестерина в крови и сыворотке не одинаково.

Принцип тот же.

Реактивы те же, только вместо сернокислого натрия пользуются двузамещенным фосфорнокислым натрием; предварительно его рассыпают тонким слоем на чашке Петри и ставят на 10—14 дней в сухое, защищенное от пыли место при комнатной температуре; соль при этом теряет часть своей воды (вместо  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  получается  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ); контролируют путем повторного взвешивания; если вес стал постоянным — выветривание закончено.

Оборудование: 1) пробирка для центрифуги с обыкновенным (неострым) конусом; 2) две пробирки, градуированные или имеющие одну



метку, соответствующую  $2,5 \text{ см}^3$ , с притертой пробкой; 3) микропипетки емкостью в  $0,1 \text{ см}^3$ ; 4) колориметр.

Ход определения. Отмеривают микропипеткой  $0,1 \text{ см}^3$  сыворотки или крови выдувают на дно пробирки для центрифуги; той же пипеткой набирают  $0,1 \text{ см}^3$  дистиллированной воды и выдувают туда же; промывание пипетки повторяют еще раз. Набирают той же пипеткой и выдувают туда же  $0,1 \text{ см}^3$  едкого кали (1). Пробирку ставят на 30 минут в кипящую водяную баню. По истечении этого срока прибавляют  $1,5 \text{ см}^3$  хлороформа и около  $0,15 \text{ г}$  фосфорнокислого натрия и тщательно перемешивают стеклянной палочкой. Оставляют стоять 10 минут. Погружают пробирку в горячую воду ( $80-100^\circ$ ) на несколько секунд, чтобы хлороформ закипел, и охлаждают, погружая в холодную воду, причем соль застывает в плотный комок. Прозрачную хлороформную вытяжку целиком сливают в градуированную пробирку и еще раз извлекают сыворотку: приливают к ней  $1 \text{ см}^3$  хлороформа, оставляют стоять 5 минут, погружают в горячую воду, охлаждают и сливают целиком вторую вытяжку в ту же пробирку. Обычно при этом в пробирке оказывается немного меньше  $2,5 \text{ см}^3$  хлороформа, так как часть его улетучивается при кипячении; приливают хлороформа до метки, прибавляют  $0,5 \text{ см}^3$  уксусного ангидрида и 3 капли серной кислоты, тщательно смешивают стеклянной палочкой и ставят пробирку на 25 минут в темное место при комнатной температуре. Колориметрируют в колориметре Аутенрихта, отсчет производят по кривой, заранее откалиброванной по стандарту.

Следует обратить внимание на развитие цветной реакции: последовательность ее — переход от синеватого тона в зеленый и желтоватый. Скорость переходов зависит от температуры окружающей среды. Это надо учитывать при продолжительности стояния. Для наполнения клина обрабатывают стандартный раствор, как было указано; чаще же наполняют его смесью подходящего цвета и калибруют посредством стандартного раствора холестерина, как было указано при определении остаточного азота. Смесь состоит из  $10 \text{ см}^3 15\% \text{ CuSO}_4$ ,  $2,2 \text{ см}^3 0,1\% \text{ K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $1,7 \text{ см}^3 10\% \text{ CO}(\text{NO}_2)_2$ ,  $0,5 \text{ см}^3 10\% \text{ HCl}$  и  $11,5 \text{ см}^3$  дистиллированной воды. Если зеленый цвет смеси не вполне подходит к зеленому цвету обработанного соответствующим образом холестеринového раствора, то состав ее соответствующим образом изменяют, прибавляя немного медного или же хромовокислого раствора.

Если в лаборатории нет никакого колориметра, то из этой смеси готовят стандартную шкалу. Для этого отбирают 15—20 пробирок из бесцветного стекла совершенно одинакового диаметра (в ряд пробирок отмеривают по  $15 \text{ см}^3$  воды и отбирают те из них, в которых вода стоит на одинаковом уровне); 7 пробирок служат для шкалы, остальные — для исследований (табл. 33).

Стандартная шкала

Таблица 33

	№ пробирки						
	1	2	3	4	5	6	7
Стандартный раствор . . . . .	10,0	9,0	8,0	7,0	6,0	5,0	4,0
Дистиллированная вода . . . . .	0,0	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0
Окраска соответствует содержанию холестерина в мг% при работе с $0,1 \text{ см}^3$ сыворотки или крови . . .	250	225	200	175	150	125	100



В пробирки наливают искусственный стандартный раствор в убывающем количестве, добавляют водой до 10 см<sup>3</sup>, запаивают или плотно закрывают пробкой и заливают парафином. Обработав сыворотку, как было указано, и получив после 25-минутного пребывания в темном месте зеленую жидкость, сравнивают ее с пробирками стандартной шкалы, подбирают наиболее подходящую и таким образом определяют количество холестерина в испытуемой жидкости.

3) **Диагностическое значение.** У здоровых холестерин при определении по методу Аутенрита колеблется от 140 до 180 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Повышение количества холестерина отмечается на протяжении всего периода беременности (175—200 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>). Весьма резкая гиперхолестеринемия обнаруживается при сахарной болезни: количество холестерина в крови почти так же характерно для степени тяжести диабета, как количество сахара. На введение инсулина холестерин реагирует резким падением, так же как и сахар. Количество холестерина при диабете может достигать до 1 000 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> (1<sup>0</sup>/<sub>0</sub>); вся сыворотка имеет молочнобелый вид. Далее, очень высокие цифры холестерина (700—1 000 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>) наблюдаются при липоидном нефрозе. При хроническом гломерулонефрите и вторичной сморщенной почке количество холестерина также повышено. При механической желтухе количество свободного холестерина повышено (количество холестериновых эфиров понижено); то же при паренхиматозной желтухе, но в несколько меньшей степени. В период выздоровления концентрация холестерина быстро возвращается к норме. При подострой желтой атрофии печени количество холестерина часто понижено. При циррозе печени получают неоднородные данные. При заболеваниях надпочечников количество холестерина понижено. При декомпенсации сердца в большинстве случаев количество холестерина понижено, иногда резко, за исключением митральных пороков (особенно стеноза), при которых обычно находят нормальные и даже повышенные цифры. При гипертонии количество холестерина резко повышено, но при наступлении декомпенсации оно падает; при декомпенсированной гипертонии чаще находят нормальные или лишь слегка повышенные цифры. Артериосклероз, особенно старческий, часто протекает без повышения количества холестерина. О гиперхолестеринемии см. также «Определение билирубина».

Уменьшение количества холестерина в сыворотке отмечается при различных видах малокровия, особенно злокачественном, при голодании и острых инфекционных заболеваниях во время лихорадочного периода.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОСФАТОВ

Фосфор содержится в крови в разнообразных соединениях (липидных и неорганических). В плазме содержится в норме 3—5 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> неорганического фосфора. По сравнению с этой величиной содержание фосфора в клетках огромно — от 50 до 100 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, причем фосфорная кислота этой фракции чрезвычайно неустойчива. В свежеснятой крови даже в отсутствие гемолиза в течение первых 2—3 часов может нарастать органическая кислоторастворимая фракция за счет неорганического фосфора. Позднее имеет место обратное явление: органический кислоторастворимый фосфор подвергается гидролизу с образованием неорганического; в гемолизированной крови этот гидролиз совершается сразу и в большом объеме.

Взятие крови, следовательно, независимо от того, в чем предполагается произвести определение (в сыворотке, плазме или цельной крови), должно быть выполнено со всеми предосторожностями, предупреждающими



гемолиз (сухая игла, сухая пробирка и т. п.); определение производится непосредственно после взятия крови.

1) По способу Белл-Дойзи-Бриггса. Принцип. Неорганический фосфор крови или сыворотки (после осаждения белков) образует с молибденовой кислотой фосформолибденовую кислоту, которая восстанавливается гидрохиноном и сернистокислым натрием в молибденовую синь. По степени окраски, определяемой колориметрически, вычисляют количество неорганического фосфора.

Реактивы: 1) 20% раствор трихлоруксусной кислоты; 2) 5% молибденовый раствор: 25 г молибденовокислого аммония растворяют приблизительно в 300 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и, если нужно, фильтруют. Раствор вносят в мерную колбу емкостью в 500 см<sup>3</sup>. В другой колбе к 125 см<sup>3</sup> дистиллированной воды приливают 75 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты. Второй раствор соединяют с первым и по охлаждении доливают водой до метки. Перед употреблением нужно произвести пустой опыт (все реактивы, как для основного опыта, но без крови), чтобы убедиться в том, что реактивы сами по себе не содержат фосфора; 3) 1% раствор гидрохинона: к 100 см<sup>3</sup> раствора прибавляют 1 каплю концентрированной серной кислоты; раствор должен быть почти бесцветным; при стоянии он становится коричневым и тогда уже непригоден к употреблению; 4) содово-сернистый раствор: 25 см<sup>3</sup> 15% раствора сернистокислого натрия ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) соединяют со 100 см<sup>3</sup> 20% раствора углекислого натрия (из сухой безводной соли); перед употреблением фильтруют; раствор не стоек, его готовят в небольшом количестве на несколько определений; 5) основной стандартный раствор: отвешивают на аналитических весах 4,394 г химически чистого фосфорнокислого калия ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), предварительно высушенного в эксикаторе над серной кислотой до постоянного веса, и растворяют в 1 л воды; к готовому раствору прибавляют 5 см<sup>3</sup> хлороформа; перед употреблением этот раствор разводят в 100 раз; 1 см<sup>3</sup> рабочего стандартного раствора содержит 0,01 мг фосфора; значение для  $\text{P}_2\text{O}_5$  получается путем умножения на 2,29; 6) беззольные фильтры.

Оборудование: 1) градуированные пробирки емкостью в 10 см<sup>3</sup> с делениями на 0,5 см<sup>3</sup>; 2) точная пипетка емкостью в 1 см<sup>3</sup>; 3) градуированные пипетки; 4) колориметр Дюбоска, Аутенрита или фотометр.

Ход определения. 1 см<sup>3</sup> только что взятой, еще не свернувшейся крови (или 1 см<sup>3</sup> сыворотки) выпускают из пипетки в 3 см<sup>3</sup> воды, ополаскивают пипетку той же водой, прибавляют 1 см<sup>3</sup> трихлоруксусной кислоты (1) и спустя несколько минут фильтруют сквозь беззольный фильтр; фильтрат должен быть совершенно бесцветен и прозрачен. Отмеривают 1,5 см<sup>3</sup> фильтрата в градуированную пробирку; во вторую такую же пробирку отмеривают столько же стандартного раствора и 0,5 см<sup>3</sup> трихлоруксусной кислоты. В обе пробирки прибавляют по возможности одновременно 0,5 см<sup>3</sup> молибденового реактива (2) и 0,5 см<sup>3</sup> гидрохинона (3); жидкость темнеет. Спустя 5 минут приливают 1 см<sup>3</sup> содово-сернистого раствора (4); прибавлять приходится медленно, так как образуется пена. Доливают водой до 6 см<sup>3</sup> и спустя 10 минут колориметрируют.

Вычисление производится на основании общих принципов колориметрии. При колориметрировании в колориметре Дюбоска расчет производится по следующей формуле:

$$K_x = \frac{K_{\text{ст}} \times B_{\text{ст}}}{B_x},$$



где  $K$  — концентрация,  $B$  — высота столба жидкости при измерении; при этом надо учитывать, что для реакции взято  $1,5 \text{ см}^3$  фильтрата, равных  $0,3 \text{ см}^3$  крови.

Если пользуются колориметром Аутенрита, то подходящим по цвету оказывается клин для определения мочевой кислоты. Его калибруют, обрабатывая различные постепенно увеличивающиеся количества стандартного раствора, как было описано выше (см. «Калибровка клина», стр. 147), и нанося полученные результаты на миллиметровую бумагу. При смене реактивов следует повторить калибровку. Определение хорошо производить в фотометре (см. «Фотометрия», стр. 147).

В настоящее время установлено, что в качестве редуцирующего вещества можно брать 1% раствор аскорбиновой кислоты, приготовленный на  $n/10 \text{ HCl}$ .

Реакция проводится следующим образом: после прибавления молибденового реактива добавляют  $1 \text{ см}^3$  раствора аскорбиновой кислоты; одновременно также обрабатывают стандарт. Быстро развивается синее окрашивание, через 10 минут достигающее максимальной интенсивности. Далее колориметрируют и фосфор вычисляют по обычным правилам.

2) По способу Фиске и Себерроу. В этом способе гидрохинон заменен другим редуцирующим веществом — эйконогеном, который употребляется в качестве восстановителя в фотографии.

Принцип тот же, что и для предыдущего способа.

Реактивы: 1) растворы молибденовокислого аммония: а) растворяют 25 г молибденовокислого аммония в мерной колбе емкостью в 1 л в  $500 \text{ см}^3$   $n/10$  раствора серной кислоты и доводят водой до метки; б) растворяют 25 г той же соли в  $300 \text{ см}^3$   $n/10$  раствора серной кислоты в мерной колбе емкостью в 1 л и доводят водой до метки; в) растворяют 62,5 г той же соли в мерной колбе емкостью в  $500 \text{ см}^3$  приблизительно в  $400 \text{ см}^3$   $n/5$  раствора серной кислоты и доводят той же кислотой до метки; 2) раствор эйконогена. Эйконоген (аминонафтолсульфоновая кислота) продается готовым, но если качество его неудовлетворительно, то его можно очистить следующим образом: 1 л воды нагревают до  $90^\circ$  и растворяют в ней 150 г бисульфита натрия и 5 г безводного сернистоокислого натрия; прибавляют 15 г неочищенного эйконогена и взбалтывают до полного растворения; фильтруют сквозь фильтр такой величины, чтобы в нем вместились все количество; охлаждают фильтрат под водопроводом и прибавляют  $10 \text{ см}^3$  концентрированной соляной кислоты. Фильтруют в бюхнеровской воронке с отсасыванием; промывают водой (около  $300 \text{ см}^3$ ) и затем спиртом, пока промывная жидкость не станет бесцветной. Сухой порошок хранят в темной банке.

Для приготовления реактива в эрленмейеровскую колбу емкостью в  $100 \text{ см}^3$  отвешивают 14,25 г бисульфита натрия и 0,25 г аминонафтолсульфоновой кислоты, прибавляют  $80 \text{ см}^3$  воды и  $10 \text{ см}^3$  5% раствора сернистоокислого натрия и взбалтывают. Если сульфоновая кислота не растворяется (небольшим количеством аморфных примесей можно пренебречь), прибавляют сернистоокислого натрия по  $0,2 \text{ см}^3$ , пока не будет достигнуто растворение; доводят до  $100 \text{ см}^3$ .

Когда таким образом испытаны свойства сульфита и бисульфита, можно приготовить некоторый запас сухого реактива: смешивают в большой ступке 142,5 г бисульфита, 2,5 г порошковидной аминонафтолсульфоновой кислоты и 5 г безводного сернистоокислого натрия (или большее количество, соответственно предыдущей пробе) и тщательно смешивают пестиком, однако, не растирая. Эта сухая смесь неограниченно стойка. Из нее не реже одного раза в неделю готовят рабочий раствор: раство-



ряют 7,5 г смеси в 47 см<sup>3</sup> воды; причиной порчи является действие воздуха; поэтому лучше хранить в тщательно закрытой пробкой мерной колбе. Более стойкий раствор эйконогена в формоле: к 0,05 г эйконогена, полученного после очищения и растертого в тонкий порошок, приливают 25 см<sup>3</sup> продажного 30% формола, сильно встряхивают, прибавляют по каплям 3—4% раствор едкого натра до полного растворения и 50 см<sup>3</sup> п/10 раствора серной кислоты и доливают водой до 100 см<sup>3</sup>; хранят в темной склянке; 3) 10% раствор трихлоруксусной кислоты. Раствор не должен содержать фосфатов; испытание производят следующим образом: к 10 см<sup>3</sup> раствора в пробирке прибавляют 0,5 см<sup>3</sup> молибденовокислого аммония (1в) и 1 см<sup>3</sup> эйконогена (2); одновременно в такой же пробирке смешивают 21,5 см<sup>3</sup> воды, 2,3 см<sup>3</sup> молибдата (1а) и 1 см<sup>3</sup> эйконогена. Сравнивают окраску обоих растворов, направляя глаз от поверхности раствора ко дну пробирки, обращенному к окну; если в первой пробирке имеется синеватое окрашивание, то лучше подвергнуть трихлоруксусную кислоту перегонке (в вакууме); 4) стандартный раствор: растворяют, 0,1759 г однометального фосфорнокислого калия в мерной колбе емкостью в 1 л в небольшом количестве воды; прибавляют 10 см<sup>3</sup> п/10 раствора серной кислоты и доводят водой до метки; 5 см<sup>3</sup> этого раствора содержат 0,2 мг фосфора.

**Ход определения.** Трихлоруксусный фильтрат крови готовят, как и в предыдущем способе. Отмеривают 5 см<sup>3</sup> фильтрата в градуированную пробирку (или мерную колбочку) емкостью в 10 см<sup>3</sup>; прибавляют 1 см<sup>3</sup> молибденовокислого аммония (1б) и 0,4 см<sup>3</sup> эйконогена (2). Одновременно обрабатывают стандартный раствор: в мерную колбу емкостью в 50 см<sup>3</sup> отмеривают 5 см<sup>3</sup> стандартного раствора (4), 25 см<sup>3</sup> воды, 5 см<sup>3</sup> молибдата (1а) и 2 см<sup>3</sup> эйконогена. Доводят пробу и стандарты до метки, смешивают, колориметрируют.

**Расчет.** Концентрация стандарта — 0,004 мг фосфора в 1 см<sup>3</sup>; кровь разведена в 10 раз. Отсюда содержание фосфора в исследуемой крови:

$$X = \frac{0,004 \times 10 \times 100 \times B_{\text{ст}}}{B_x}$$

**3) Микроопределение неорганического фосфора с хлористым оловом.** Принцип. Фосфорная кислота образует с молибденовой кислотой комплексную фосформолибденовую кислоту. Прибавление хлористого олова восстанавливает фосформолибденовую кислоту в синюю окись молибдена, пригодную для колориметрирования; избыток молибденовой кислоты остается бесцветным. Для сравнения пользуются стандартным раствором фосфата.

**Реактивы:** 1) 7% раствор химически чистой трихлоруксусной кислоты (puriss.) в дважды дистиллированной воде; 2) молибденовосернокислый реактив: а) в мерную колбу емкостью в 1 л наливают около 700 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, приливают 93 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты и по охлаждении доливают водой до метки; б) 7,5 г молибденовокислого натрия (puriss. pro analysi) (или аммония) растворяют в дистиллированной воде и доводят в мерной колбе емкостью в 100 см<sup>3</sup> до метки; если нужно, фильтруют; перед употреблением смешивают 3 части раствора (а) с 1 частью раствора (б); 3) раствор хлористого олова: для изготовления основного раствора растворяют в мерной колбе емкостью в 25 см<sup>3</sup> 10 г хлористого олова (SnCl<sub>2</sub>) в небольшом количестве концентрированной соляной кислоты и доводят этой же кислотой до метки.



этот раствор стоек около 6 недель (для полного растворения реактив лучше оставить до следующего дня, так как олово растворяется очень медленно); для изготовления рабочего раствора основной раствор разбавляют в 200 раз; этот раствор стоек только один день; 4) стандартный раствор фосфорной кислоты: основной стандартный раствор готовят, растворяя 0,4394 однометального фосфорнокислого калия ( $\text{KН}_2\text{PO}_4$  puriss.) в мерной колбе емкостью в 1 л в небольшом количестве воды и доводя водой до метки. К раствору прибавляют несколько капель хлороформа. 1 см<sup>3</sup> основного стандартного раствора содержит 0,1 мг фосфора. Из этого раствора готовят два рабочих стандартных раствора различной концентрации; а) в мерную колбу емкостью в 200 см<sup>3</sup> отмеривают 10 см<sup>3</sup> основного стандартного раствора, прибавляют 100 см<sup>3</sup> трихлоруксусной кислоты (1) и доводят водой до метки; 1 см<sup>3</sup> этого раствора содержит 0,005 мг фосфора; б) в мерную колбу емкостью в 200 см<sup>3</sup> отмеривают 5 см<sup>3</sup> основного стандартного раствора, прибавляют 100 см<sup>3</sup> трихлоруксусной кислоты (1) и доводят водой до метки; 1 см<sup>3</sup> этого раствора содержит 0,0025 мг фосфора; 5) нормальный раствор серной кислоты.

Вся стеклянная посуда должна быть безукоризненно чисто вымыта горячей хромовосерной смесью (см. «Мытье посуды») и ополоснута дважды дистиллированной водой. Вода, смешанная с реактивами, не должна давать синего окрашивания.

Ход определения. Точной микропипеткой отмеривают 0,2 см<sup>3</sup> крови из укола в мякоть пальца и выдувают в узкую пробирку с притертой стеклянной пробкой, в которую предварительно было отмерено 1,8 см<sup>3</sup> трихлоруксусной кислоты; опускают в нее стеклянную бусьнку и сильно взбалтывают. Центрифугируют с большой скоростью; осторожно отсасывают 1,5 см<sup>3</sup> прозрачной жидкости и переносят ее непосредственно в сосуд колориметра. Во второй сосуд колориметра отмеривают 1,5 см<sup>3</sup> рабочего стандартного раствора (4а) или (4б), в зависимости от того, ожидается ли высокая или низкая концентрация фосфора в исследуемой крови. В тот и другой сосуд прибавляют по 1,2 см<sup>3</sup> молибденовосернокислого реактива (2), приготовленного перед употреблением, и тщательно смешивают стеклянной палочкой; прибавляют в оба сосуда по 0,3 см<sup>3</sup> разведенного раствора двухлористого олова (3). Максимальное окрашивание достигается приблизительно через 15 секунд и держится без изменения около 2 часов, так что с одним и тем же стандартным раствором можно сделать целую серию определений. Если окраска того и другого раствора слишком интенсивна для точного колориметрирования, можно прибавить в тот и другой сосуд равное количество нормальной серной кислоты.

Вычисление (если был взят раствор (4а):  $\frac{B_{\text{ст}} \times 0,0075}{B_x} = \text{мг фосфора}$  во взятом количестве жидкости (уравнение первое).

Для того чтобы вычислить количество фосфора в миллиграмм-процентах, нужно полученную величину умножить на  $\frac{10\,000}{15}$  или проще:

$$\text{количество фосфора в мг\%} = \frac{\text{стояние стандарта}}{\text{стояние пробы}} \times 5.$$

Цифра  $\frac{10\,000}{15}$  получается следующим образом: было взято 0,2 см<sup>3</sup> крови и доведено до 2 см<sup>3</sup>, откуда было взято 1,5 см<sup>3</sup> жидкости, что соответствует 0,15 см<sup>3</sup> крови; чтобы привести к 100 см<sup>3</sup> крови, надо поэтому результат уравнения первого разделить на 15 и умножить на 10 000. Цифра 0,0075 получается потому, что было взято 1,5 см<sup>3</sup> стандартного



раствора (4а), 1 см<sup>3</sup> которого, как было указано, содержит 0,005 мг фосфора.

Пример. Стояние стандартного раствора (4а) — 20 мм, стояние пробы — 18 мм, концентрация стандартного раствора — 0,0075 мг.

Содержание фосфора в испытуемой крови:

$$\frac{20 \times 0,0075 \times 10\,000}{18 \times 15} = \frac{20,5}{18} = 5,5 \text{ мг}\% \text{ фосфора.}$$

Определение в 0,2 см<sup>3</sup> сыворотки или плазмы производится так же, как в крови, но для осаждения белков пользуются 14% трихлоруксусной кислотой; 0,2 см<sup>3</sup> сыворотки или плазмы отмеривают в узкую пробирку для центрифуги, в которой имеется 0,8 см<sup>3</sup> дистиллированной воды; повторно ополаскивают пипетку той же водой. Прибавляют 1 см<sup>3</sup> 14% трихлоруксусной кислоты, центрифугируют с большой скоростью и т. д., как было описано для цельной крови. Расчет тот же.

4) **Фосфор липоидов (лецитин).** Принцип. Липоиды крови извлекают смесью эфира и спирта, экстракт сжигают и в остатке определяют неорганический фосфор одним из методов.

Реактивы: 1) смесь эфира и спирта готовится из смешения их в равных частях; 2) n/10 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 3) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% (пергидроль).

Ход определения. В колбочку из тугоплавкого стекла с меткой 25 см<sup>3</sup> вносят 18 см<sup>3</sup> смеси (1); туда же наливают сыворотки или плазмы 0,5 см<sup>3</sup>, хорошо смешивают и помещают в водяную баню до тех пор, пока смесь не начнет закипать; вынимают из бани, охлаждают до комнатной температуры, доливают смесью до метки, хорошо перемешивают и фильтруют. 5 см<sup>3</sup> фильтрата наливают в маленькую кьельдалевскую колбочку (15 см<sup>3</sup>), добавляют 0,5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3), бросают туда стеклянную бусинку и на небольшом огне начинают постепенно сжигать, поместив колбу в наклонном положении. Когда содержимое побуреет, добавляют после охлаждения одну каплю H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2) и продолжают сжигание до тех пор, пока раствор сделается бесцветным (при необходимости повторно добавляют H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>); при охлаждении добавляют воду и ведут определение неорганического фосфора одним из описанных методов, колориметрируют со стандартом и обязательно проводят пустой опыт для установления отсутствия фосфора в реактивах. Если имеется небольшое количество фосфора, вычитают эту величину из опыта. Для вычисления количества лецитина нужно полученное содержание фосфора умножить на 25, так как фосфор липоидов составляет около 4% лецитина.

5) **Диагностическое значение.** Сыворотка здорового взрослого человека содержит 3—4 мг%, сыворотка ребенка — 4—6 мг% неорганического фосфора; летом его несколько больше, чем зимой. В период переваривания углеводов количество неорганического фосфора несколько понижается; так, например, через 30 минут после нагрузки 100 г глюкозы количество фосфора в сыворотке падает на 1—1,5 мг%; возвращение к исходной величине через 4—5 часов. Количество фосфора понижено при рахите в активном периоде до 1—2 мг%, а также при родственной рахиту остеомалиции. При лечении рахита препаратами витамина D или рыбьим жиром (или ультрафиолетовыми лучами ртутно-кварцевой лампы) всегда наблюдается повышение количества фосфора, так что повторные определения могут служить для контроля за успешностью лечения. Далее понижение количества фосфора наблюдается при гиперпаратиреозидизме и гиперинсулинизме.

При даче слишком больших доз препаратов витамина D (вигантола), реже рыбьего жира (гипервитаминоз D) может развиваться гиперфосфатемия

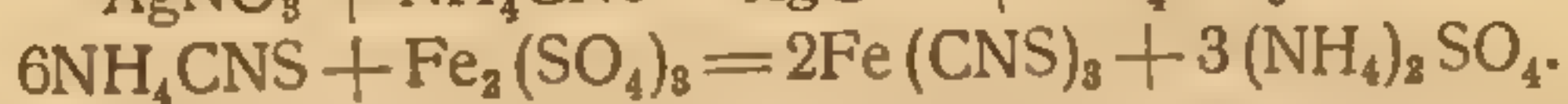
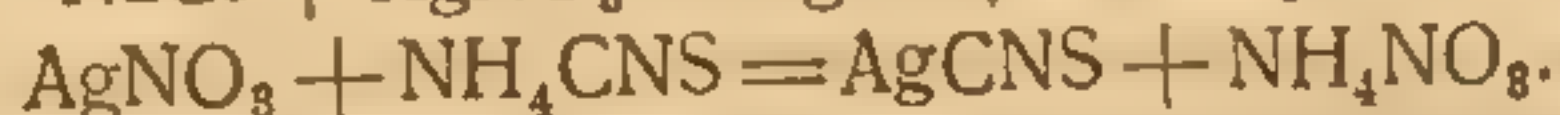


одновременно с гиперкальциемией. При недостаточности паращитовидных желез также наблюдается гиперфосфатемия, но сопровождающаяся более или менее пропорциональным понижением концентрации кальция. Повышение количества фосфора отмечается при почечной недостаточности часто совместно с понижением резервной щелочности; количество фосфора может дойти до 8 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Повышение фосфатемии до 5—7 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> наблюдается также в период заживления костных переломов.

В норме фосфор липоидов в цельной крови содержится в количестве 12—14 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Около 50—60% его содержится в эритроцитах. При анемии количество фосфора липоидов увеличивается в эритроцитах и уменьшается в сыворотке. Фосфор липоидов сыворотки увеличивается при диабете, нефритах, патологической беременности и в некоторых случаях нарушений функции печени.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХЛОРА

1) По способу Рушняка. Принцип. Белки крови разрушают марганцовокислым калием в кислом растворе в присутствии избытка азотнокислого серебра. Часть азотнокислого серебра при этом связывается хлором, остаток оттитровывают обратно роданистым аммонием в присутствии железозамещенных квасцов в качестве индикатора. Реакция протекает по формулам:



Конец реакции характеризуется появлением розовой окраски; последняя зависит от образовавшегося роданистого железа при взаимодействии избытка роданистого аммония с железозамещенными квасцами.

Требуемое количество крови: 0,2 см<sup>3</sup> крови или сыворотки. Желательно ставить одновременно два параллельных определения, а также поставить пустой опыт.

Определение производят в цельной крови, а не в плазме или сыворотке, так как при отстаивании плазмы и во время свертывания происходит перемещение хлора из эритроцитов в жидкую часть крови или в обратном направлении, в зависимости от условий взятия (застой вены) и хранения. Так как размер этого сдвига не может быть учтен, то при повторных исследованиях могут получиться несравнимые между собой результаты.

Реактивы: 1) п/100 раствор азотнокислого серебра. Сначала готовят децинормальный раствор: отвешивают точно 16,987 г химически чистого азотнокислого серебра, растворяют в воде в мерной колбе емкостью в 1 л и доводят дважды дистиллированной водой до метки. Из этого раствора готовят п/100 раствор следующим образом: 10 см<sup>3</sup> отмеривают в мерную колбу емкостью в 100 см<sup>3</sup>, прибавляют 40 см<sup>3</sup> концентрированной азотной кислоты, не содержащей хлора и азотистой кислоты (последнюю можно удалить кипячением), и 15 см<sup>3</sup> насыщенного водного раствора железозамещенных квасцов и доводят водой до метки; 2) п/100 раствор роданистого аммония. Предварительно готовят п/10 раствор. Ввиду гигроскопичности препарата, не рекомендуется отвешивать точное количество его, а брать несколько больше, чем следует, например, 8 г, и доводить водой до метки. Затем титр этого раствора устанавливают по предыдущему: 10 см<sup>3</sup> п/10 раствора азотнокислого серебра отмеривают в небольшую эрленмейеровскую колбочку или стаканчик, прибавляют



несколько капель насыщенного раствора железоммиачных квасцов и приливают из бюретки раствор роданистого аммония до появления розового окрашивания. Вычисляют фактор и учитывают его при изготовлении п/100 раствора. Например, если при титровании 10 см<sup>3</sup> п/10 азотнокислого серебра было потрачено не 10, а 11,4 см<sup>3</sup> роданистого аммония, то, следовательно, изготовленный раствор слабее, чем требуется, и для приготовления 250 см<sup>3</sup> п/100 раствора следует взять не 25 см<sup>3</sup>, а  $\left(\frac{25 \times 11,4}{10} =\right)$

28,5 см<sup>3</sup>. Титры обоих растворов должны точно совпадать один с другим, т. е. 5 см<sup>3</sup> одного раствора должны соответствовать ровно 5 см<sup>3</sup> другого раствора или же вычисляют фактор; 3) концентрированная азотная кислота (удельный вес 1,4), не содержащая хлора и азотистой кислоты; 4) насыщенный раствор марганцовокислого калия; целесообразно хранить его в темной капельнице; 5) химически чистый безводный виноградный сахар (глюкоза); обыкновенный продажный виноградный сахар всегда содержит хлориды; 6) насыщенный раствор железоммиачных квасцов; к раствору прибавляют азотной кислоты до исчезновения окрашивания.

Оборудование: 1) точные микропипетки емкостью в 0,2 или 0,1 см<sup>3</sup>; 2) точная пипетка Мора в 2 см<sup>3</sup>; лучше пользоваться пипеткой не на выливание, а со второй меткой вниз; 3) колбочки из тугоплавкого стекла емкостью в 30—50 см<sup>3</sup>; 4) микробюретка на 2 см<sup>3</sup>.

Ход определения. В две маленькие колбочки отмеривают по 2 см<sup>3</sup> дважды дистиллированной воды (точности не требуется). Насасывают микропипеткой кровь из укола в палец, осторожно спускают ее в воду, стараясь не замутить сразу всей воды, и несколько раз ополаскивают пипетку той же водой. Прибавляют в каждую колбочку точно по 2 см<sup>3</sup> азотнокислого серебра и около 0,5 см<sup>3</sup> (10 капель) азотной кислоты и нагревают на асбестовой сетке или песочной бане до кипения. При кипячении приходится все время взбалтывать и соблюдать большую осторожность, так как жидкость пенится и может вытечь из колбы. Когда жидкость начинает кипеть, пламя уменьшают и прибавляют по каплям марганцовокислый калий так, чтобы фиолетовое окрашивание не исчезало. Кипячение продолжают 5 минут, после чего к окрашенной жидкости прибавляют немного (на кончике ножа) виноградного сахара. Жидкость становится совершенно прозрачной и бесцветной; на дне собираются чистые белые грубые хлопья. По охлаждении жидкости прибавляют 4—5 капель железоммиачных квасцов и титруют избыток серебра, оставшийся несвязанным, роданистым аммонием до розового окрашивания. При прибавлении роданистого аммония в колбочке сначала появляется резкая опалесценция, которая может симулировать розовую окраску и которую нужно уметь отличать от последней.

Вычисление. Потраченное при обратном титровании число кубических сантиметров роданистого аммония вычитают из прибавленного раствора количества азотнокислого серебра и остаток умножают на 0,585 (если хотят выразить результат в миллиграммах хлористого натрия) или на 0,355 (чтобы выразить результат в миллиграммах хлора).

Пример. Взято 0,2 см<sup>3</sup> крови, прибавлено 2 см<sup>3</sup> азотнокислого серебра. При обратном титровании потрачено 0,6 см<sup>3</sup> роданистого аммония. Содержание хлористого натрия соответствует  $0,585 \times 1,4 = 0,8190$  мг в 0,2 см<sup>3</sup> крови или 409,50 мг в 100 см<sup>3</sup> крови (409,5 мг<sup>0</sup>/о); отсюда вычитают данные пустого опыта. При взятии 0,1 см<sup>3</sup> крови соответственно изменяют расчет.

2) Иодометрический способ (Прикладовицкого и Аполлонова). Более точные результаты дает иодометрическое титрование.



Реактивы: 1) п/100 раствор хлористого натрия, приготовленный из перекристаллизованного, высушенного, прокаленного и охлажденного препарата: отвешивают на аналитических весах 0,5846 г и растворяют в мерной колбе емкостью в 1 л в дважды дистиллированной воде; 2) п/100 раствор азотнокислого серебра: отвешивают 1,6987 г азотнокислого серебра и растворяют в мерной колбе в 1 000 см<sup>3</sup> дважды дистиллированной воды, хранят в темной посуде; титр этого раствора устанавливают по предыдущему; титруют в присутствии 1—2 капель 7% раствора хромовокислого калия в качестве индикатора; вычисляют фактор; 3) п/100 раствор иода: 0,73 г иодистого калия растворяют в 20—25 см<sup>3</sup> воды и в этом растворе растворяют 0,2 г иода, доводят водой до 1 л, титр раствора устанавливают по раствору азотнокислого серебра: отмеривают в маленькую эрленмейеровскую колбочку 2 см<sup>3</sup> п/100 раствора серебра (2), прибавляют 0,05 см<sup>3</sup> разведенной азотной кислоты (4), 3—5 см<sup>3</sup> воды и 3—4 капли водного раствора крахмала; титруют раствором иода; из потраченного количества вычитают 0,01 см<sup>3</sup>, ушедшую на окраску жидкости; вычисляют фактор; титр проверяют каждый раз перед началом работы; 4) разведенная азотная кислота: 1 часть концентрированной азотной кислоты и 2 части воды; 5) насыщенный раствор марганцовокислого калия; 6) концентрированный раствор глюкозы, точной концентрации не требуется; 7) водный раствор крахмала (приготовление см. стр. 140).

Ход определения. В эрленмейеровскую колбочку емкостью в 30 см<sup>3</sup> наливают 2—3 см<sup>3</sup> дважды дистиллированной воды и спускают из микропипетки 0,1 см<sup>3</sup> крови; тщательно ополаскивают пипетку, прибавляют 2 см<sup>3</sup> азотной кислоты (4) и 2 см<sup>3</sup> азотнокислого серебра (2). Нагревают на песочной бане; если нет специального прибора, то нагревают на огне плоскую сковороду (или кусок жести с загнутыми сверху краями), на которую насыпают слой песка толщиной в 0,5—1 см; песок нагревают заранее. Когда жидкость начинает кипеть, прибавляют 15—20 капель марганцовокислого калия (5); осторожно, так как жидкость сильно вспенивается, кипятят 10—12 минут. Раствор все время должен оставаться бурым; если произошло посветление, нужно добавить марганцовокислого калия. Снимают с песка, прибавляют по каплям глюкозу до полного обесцвечивания. По охлаждении фильтруют в другую эрленмейеровскую колбочку такого же размера через маленькую воронку, в которую вложен комочек влажной ваты, колбочку и фильтр ополаскивают два раза 3 см<sup>3</sup> воды. Прибавляют 3—4 капли крахмала и титруют иодом до посинения.

Вычисление. Количество потраченного при обратном титровании иодного раствора вычитают из количества прибавленного к крови азотнокислого серебра (2 см<sup>3</sup>); как было указано выше, предварительно вычитают из потраченного количества 0,01 см<sup>3</sup> на окраску, умножают на 0,355 или на 0,585 (см. предыдущий способ). Таким образом:

$$x = [a - (b - 0,01)] \times 0,355,$$

где  $x$  — количество миллиграммов хлора в 0,1 см<sup>3</sup> крови,  $a$  — количество серебра,  $b$  — количество потраченного иодного раствора. Вычитают данные пустого опыта; умножают на 1 000. Если титр растворов не точно совпадает, то вносят соответствующую поправку. Например, на 2 см<sup>3</sup> п/100 AgNO<sub>3</sub> приходится потратить при титровании 2,05 см<sup>3</sup> иодного раствора. Из этого количества нужно вычесть 0,01 см<sup>3</sup>, получаем 2,04 см<sup>3</sup>. Следовательно, иодный раствор слабее раствора серебра в  $\frac{2}{2,04}$  раза, или,



иначе говоря, точного раствора было бы потрачено в  $\frac{2}{2,04}$  раза меньше. Следовательно, полученную величину нужно сначала умножить на этот коэффициент поправки, а потом уже вычитать из количества прибавленного серебра.

Вычисление, таким образом, не представляет никакого затруднения. В табл. 34 непосредственно указано количество хлора в миллиграмм-процентах.

Таблица 34

*Количество кубических сантиметров потраченного раствора иода, соответствующее количеству миллиграммов хлора в 100 см<sup>3</sup> испытуемой жидкости.*

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0,4	571,5	568	564,5	561	557,5	554	550,5	547,5	543,5	539,5
0,5	536	532,5	529	525,5	522	518,5	515	511,5	508	504
0,6	500,5	497	493,5	490	486,5	483	479,5	476	472,5	568,5
0,7	465	461,5	458	454,5	451	447,5	444	440,5	437	433
0,8	429,5	426	422,5	419	415,5	412	408,5	400	401,5	398,5
0,9	395	391,5	388	384,5	381	377,5	374	370,5	367	363
1,0	359,5	356	352,5	349	345,5	342	338,5	335	331,5	337,5
1,1	324	320,5	317	313,5	310	306,5	303	299,5	296	292
1,2	288,5	285	281,5	278	274,5	271	267,5	264	260,5	255,5
1,3	253	249,5	246	242,5	239	235,5	232	228,5	225	221
1,4	217,5	214	210,5	207	203,5	200	196,5	193	189,5	185,5
1,5	182	178,5	175	171,5	168	164,5	161	157,5	154	150
1,6	146,5	143	139,5	136	132,5	129	125,5	122	118,5	114,5
1,7	110	106,5	103	99,5	96	92,5	89	85,5	82	78
1,8	77,5	74	70,5	67	63,5	60	56,5	53	49,5	46
1,9	39	35,5	32	28,5	25	21,5	18	14,5	11	7
2,0	3,5	0	—	—	—	—	—	—	—	—

3) **Диагностическое значение.** При нормальных условиях цельная кровь содержит 450—550 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> хлористого натрия, плазма — до 690 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Резкое уменьшение количества хлора (при огромной его потере с потом) может повести к тяжелому состоянию, вплоть до комы со смертельным исходом. Причиной обеднения организма хлором в патологии в большинстве случаев является непосредственная потеря его при упорных обильных рвотах на почве стеноза привратника и других причин; реже имеется трансминерализация и переход хлора из крови в ткани; это наблюдается главным образом при отравлении сулемой, при завороте кишок. Введение может вызвать значительное понижение концентрации хлора в крови. Во всех этих случаях своевременное определение хлоридов в крови может иметь решающее значение. Бессолевая диета сама по себе гипохлоремии не вызывает.

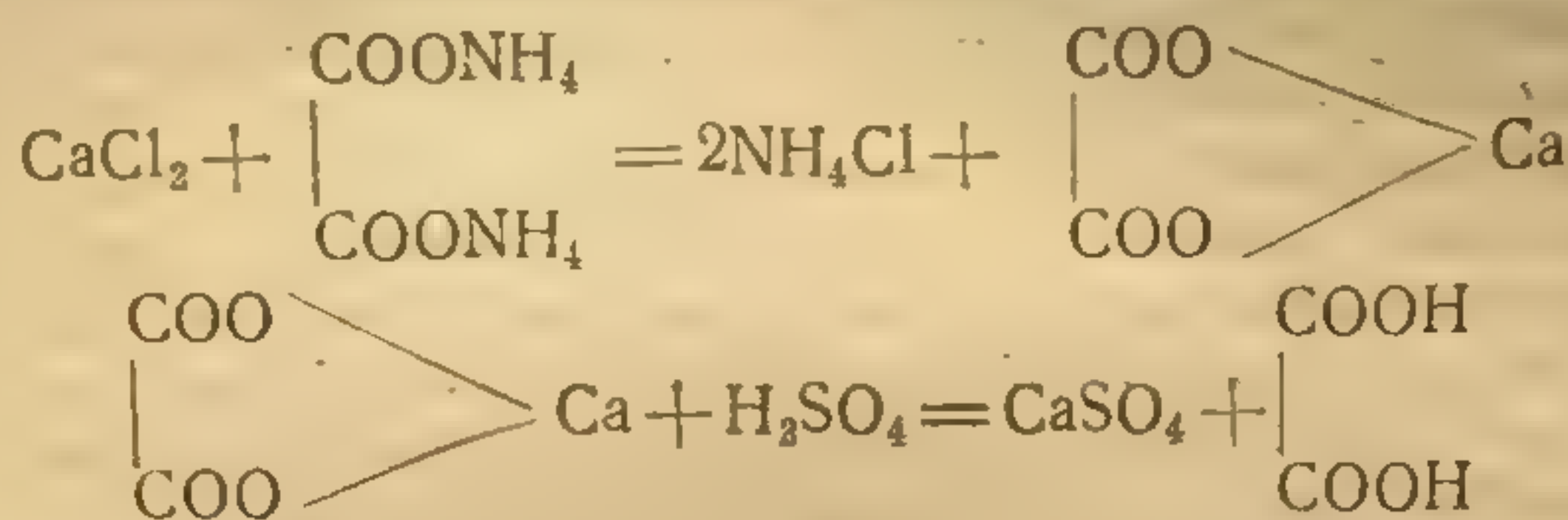
### ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛЬЦИЯ

Большинство способов определения кальция основано на осаждении его в виде трудно растворимой щавелевокислой соли; количество последней может быть в дальнейшем определено различными способами.

1) **Определение кальция в цельной сыворотке.** Принцип. Кальций осаждают из сыворотки (без предварительного удаления белков) в виде щавелевокислого кальция. Это соединение растворяют в серной



кислоте, причем освобождается щавелевая кислота. Количество освобожденной щавелевой кислоты определяют путем титрования марганцовокислым калием и узнают, таким образом, количество кальция, которое было с ней связано. Реакция протекает по формуле:



Требуемое количество крови: 1 см<sup>3</sup> сыворотки для одного определения; желательно ставить одновременно два параллельных определения.

Отделение сыворотки или плазмы от эритроцитов следует производить в кратчайший срок, так как при стоянии оболочка эритроцитов становится проходной для кальция. Пробирки, в которых производится определение кальция, должны сохраняться в кислой смеси.

Реактивы: 1) реактив для осаждения кальция: насыщенный (приблизительно 4%) раствор химически чистого щавелевокислого аммония; реактив готовят на дважды дистиллированной воде и хранят в колбочке из хорошего стекла, так как простое стекло при стоянии отдает кальций; 2) 2% раствор аммиака — концентрированный продажный аммиак (тройной) разводят приблизительно в 50 раз; 3) нормальный раствор серной кислоты; точности титра не требуется; 4) n/100 раствор марганцовокислого калия; готовят каждый раз перед употреблением из n/10 раствора, титр которого при хранении в темном прохладном месте стоек; 5) дважды дистиллированная вода.

Оборудование: 1) пробирки для центрифуги, желательно с коротким и очень острым конусом; еще лучше, если острый кончик вытянут в виде маленького цилиндрического углубления около 1 мм в диаметре и 2 мм длины; 2) пипетка Мора в 1 см<sup>3</sup>; 3) пипетка, градуированная в 10 см<sup>3</sup>; 4) тонкая стеклянная палочка; 5) водяная баня; 6) микробюретка; 7) быстроходная центрифуга.

Ход определения. Кровь в количестве около 10 см<sup>3</sup> берут из вены сухой иглой в сухой шприц или непосредственно в пробирку и ставят в термостат при 37°; когда образуется плотный сгусток, осторожно отделяют верхний слой тонкой стеклянной палочкой или платиновой иглой от стенки пробирки, переносят пробирку в ледник и, когда сверток несколько сократится, центрифугируют и отсасывают сыворотку. Вся эта процедура должна быть закончена возможно быстрее. В пробирку для центрифуги отмеривают 2 см<sup>3</sup> дважды дистиллированной воды (5), приливают точно отмеренные 1 см<sup>3</sup> сыворотки и 1 см<sup>3</sup> щавелевокислого аммония (1) и оставляют стоять не менее 30 минут, а лучше до следующего утра; приливать реактив надо таким образом, чтобы он попадал прямо в жидкость, а не на стенки пробирки, откуда его в дальнейшем было бы трудно удалить. Центрифугируют 5 минут на быстроходной электрической центрифуге, дающей не менее 1500 оборотов в минуту; щавелевокислый кальций образует в острей конуса плотный белый осадок. Жидкость над осадком сливают, быстро опрокидывая пробирку, края обтирают фильтровальной бумагой; при этом над осадком остается лишь очень небольшое количество жидкости. Наливают в про-



бирку 4 см<sup>3</sup> аммиака (2) и смешивают с ним оставшуюся над осадком жидкость. Для этого держат пробирку двумя пальцами левой руки за верхний край, а по нижнему концу несколько раз ударяют указательным пальцем правой руки, пока от осадка не поднимется кверху тонкая спиралевидная струйка. Вновь центрифугируют, сливают жидкость, вытирают фильтровальной бумагой край пробирки, еще раз наливают 4 см<sup>3</sup> аммиака и т. д. Цель этого повторного центрифугирования — не промывание осадка, а только полное удаление остающейся над ним жидкости, содержащей щавелевокислое соединение; поэтому взбалтывать целиком весь осадок не нужно, а поступают, как было описано выше; жидкость при этом смешивается с аммиаком и удаляется вместе с ним. Вместо аммиака можно было бы пользоваться водой, но избыток воды растворяет некоторое количество кальция, так что аммиак заслуживает предпочтения. Когда после центрифугирования слита последняя порция аммиака, на осадок наливают 2 см<sup>3</sup> серной кислоты (3), осадок размешивают тонкой стеклянной палочкой и погружают пробирку на 1—2 минуты в кипящую водяную баню; жидкость в пробирке должна нагреться приблизительно до 70°. Горячий раствор титруют марганцовокислым калием (4), приливая его из микробюретки до появления бледнорозового окрашивания, не исчезающего в течение минуты.

Так как самые реактивы, а также вода, несмотря на двойную перегонку, содержат некоторое количество кальция, одновременно ставят слепой опыт; кроме того, около 0,03 см<sup>3</sup> затрачивается на получение розоватого цвета воды. В пробирку для центрифуги отмеривают 2 см<sup>3</sup> дважды дистиллированной воды, прибавляют 1 см<sup>3</sup> щавелевокислого аммония, спустя 30 минут центрифугируют, дважды промывают аммиаком и т. д., так же как испытуемый материал. Потраченное при титровании слепого опыта количество марганцовокислого калия вычитают из количества, потраченного при титровании испытуемой жидкости.

Вычисление. 1 см<sup>3</sup> n/100 раствора марганцовокислого калия соответствует 0,2 мг кальция. Поэтому, чтобы определить количество кальция в 100 см<sup>3</sup> сыворотки, нужно 0,2 мг умножить на количество кубических сантиметров марганцовокислого калия, потраченного при титровании, и на 100. Из полученной величины вычитают количество марганцовокислого калия, потраченное при титровании слепого опыта и на окраску жидкости.

Пример. При титровании сыворотки было потрачено 0,54 см<sup>3</sup> марганцовокислого калия, при титровании слепого опыта — 0,05 см<sup>3</sup>. Содержание кальция равно  $(0,54 - 0,05) \times 0,2 \times 100 = 9,8$  мг%. Другими словами, полученную разность увеличивают в 20 раз.

2) **Диагностическое значение.** Нормальная сыворотка содержит от 9 до 11,6, в среднем 10 мг% кальция, эритроциты — от 0,6 до 5,9, в среднем 3,1 мг% кальция. Кальций сыворотки состоит из двух физиологически различных частей: диализирующего и недиализирующего кальция, связанного с белками сыворотки. Диализирующая часть, по всей вероятности, является физиологически активной, она составляет около 45—55% общего кальция сыворотки (4,5—5,5 мг%). Введение кальция per os не повышает существенно образом уровня кальция в сыворотке; подкожное введение его ведет к резкому, но кратковременному повышению.

Количество кальция всегда уменьшено при тетании грудного возраста и иногда уменьшено при рахите; в период выздоровления от рахита количество кальция всегда повышается, даже если оно раньше не было понижено; поэтому, определяя повторно количество кальция у ребенка, страдающего рахитом, можно судить об успешности лечения.



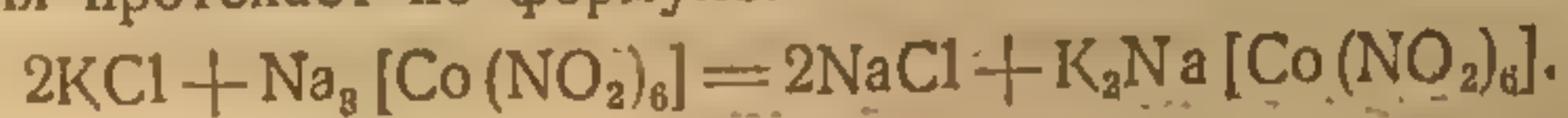
Далее, гипокальциемия наблюдается при паратиреопривной тетании и при некоторых формах нефрозов и нефритов в тяжелом состоянии.

Количество кальция увеличено при гиперпаратиреоидизме, деструктивных процессах в костной ткани и гипервитаминозе D (введение слишком больших доз вигантоля или другого препарата этого витамина).

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛИЯ

Принцип. Весь калий, содержащийся в сыворотке, осаждают избытком кобальтовой соли в виде сложного кобальтового соединения.

Реакция протекает по формуле:



Нитрит, входящий в это соединение, оттитровывается марганцовокислым калием.

Требуемое количество крови: 1 см<sup>3</sup> сыворотки. Весьма желательно ставить одновременно два или, лучше, 3 параллельных определения. При взятии крови необходимо соблюдать большую осторожность, так как, в противоположность кальцию и натрию, калий содержится в эритроцитах в значительно большем количестве, чем в сыворотке (в среднем 380 мг<sup>0</sup>/о). Поскольку уже при хранении сыворотки совместно с эритроцитами калий может диффундировать из эритроцитов в сыворотку (например, через 6 часов количество калия в сыворотке увеличивается на 5 мг<sup>0</sup>/о), необходимо как можно скорее отсосать сыворотку и хранить ее отдельно. Еще большая ошибка, естественно, получается при повреждении эритроцитов. Уже легкий гемолиз (растворение небольшого количества красных клеток) делает исследование недопустимым. Кровь берут из вены совершенно сухой иглой в сухую пробирку. Немедленно переносят ее для свертывания в термостат, осторожно отделяют от стенок верхний край сгустка, стараясь не повредить его, тотчас охлаждают, центрифугируют и отсасывают сыворотку. Весь промежуток времени между взятием крови из вены и отсасыванием сыворотки должен быть по возможности коротким.

Реактивы: 1) раствор натрия-кобальт-гексанитрита: а) 25 г кристаллического азотнокислого кобальта растворяют в 50 см<sup>3</sup> дистиллированной воды; к готовому раствору прибавляют точно 12,5 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты; б) 120 г азотистокислого натрия (не содержащего калия) растворяют в 180 см<sup>3</sup> воды при легком нагревании на водяной бане. По охлаждении объем раствора равен приблизительно 220 см<sup>3</sup>. Раствор (а) переносят в колбу для промывания (колба закрыта резиновой пробкой, сквозь которую проходят две стеклянные трубки; одна из них доходит до дна колбы, а другая заканчивается непосредственно под пробкой) или в склянку Дрекселя и приливают к нему 210 см<sup>3</sup> раствора (б), все время взбалтывая. При этом тотчас начинается выделение окислов азота. Чтобы изгнать их из раствора, через него в течение нескольких часов пропускают струю воздуха. Для этого короткую трубку соединяют посредством резиновой трубки с водоструйным насосом и пускают его в ход; запах окислов азота исчезает, а самый раствор из темнотного становится значительно более светлым и прозрачным. Такой реактив можно считать готовым к употреблению, рН его равен 5,7. Он относительно мало стоек; даже при хранении в темной склянке на холоду им можно пользоваться не больше месяца. Перед употреблением требуемое количество реактива фильтруют. Если раствор потемнеет, вновь продувают сквозь него воздух; 2) раствор азотистокислого натрия: 50 г азотистокислого натрия, не



содержащего калия, растворяют в 100 см<sup>3</sup> воды; 3) 20% раствор серной кислоты (20 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты и 80 см<sup>3</sup> воды); 4) n/100 раствор марганцовокислого калия, каждый раз готовят из n/10 раствора; 5) n/100 раствор щавелевой кислоты, каждый раз готовят из n/10 раствора; в мерную колбочку емкостью в 100 см<sup>3</sup> отмеривают 10 см<sup>3</sup> n/10 раствора, прибавляют 2 см<sup>3</sup> n/10 серной кислоты и доводят водой до метки. Приступая к реакции, необходимо каждый раз убедиться в том, что оба титра точно соответствуют один другому: отмеривают 2 см<sup>3</sup> щавелевой кислоты, прибавляют 1 см<sup>3</sup> серной кислоты (2), нагревают в водяной бане около 1—1½ минут и титруют марганцовокислым калием до появления не исчезающего розового окрашивания. Если оба титра точны, то при этом затрачивают ровно 2 см<sup>3</sup> марганцовокислого калия, в противном случае исправляют титр или вносят соответствующую поправку.

Оборудование: 1) пробирки для центрифуги с острым конусом (см. «Определение кальция»); 2) точная пипетка емкостью в 1 см<sup>3</sup>, несколько пипеток в 2 см<sup>3</sup>; 3) две микробюретки; вся посуда должна быть вымыта кислой смесью (см. «Мытье посуды») щеткой и тщательно ополоснута дистиллированной водой 2—3 раза; 4) быстроходная центрифуга.

Ход определения. 1 см<sup>3</sup> сыворотки переносят в пробирку для центрифуги с острым конусом и прибавляют 0,5 см<sup>3</sup> азотистокислого натрия (2), смешивают, оставляют стоять 5 минут, прибавляют 2,5 см<sup>3</sup> воды и вновь тщательно смешивают. Прибавляют медленно по каплям 2 см<sup>3</sup> осаждающего реактива (1), смешивая после каждой капли; при слишком быстром прибавлении реактива может произойти ошибка в 10%. Оставляют стоять не менее 30 минут (лучше 24 часа) в прохладном месте. Центрифугируют 7 минут при 1500 оборотах в минуту. Жидкость над осадком отсасывают, пользуясь тонко вытянутой пипеткой, кончик которой крючкообразно загнут кверху; на верхний конец пипетки надевают длинную резиновую трубку с мундштуком, так что отсасывание происходит под контролем зрения. Над осадком остается 0,2—0,3 см<sup>3</sup> жидкости. Осторожно приливают по стенке 5 см<sup>3</sup> воды и вращательным движением смешивают воду с оставшейся над осадком жидкостью, не взбалтывая осадка. Центрифугируют 5 минут, отсасывают жидкость так же, как в первый раз, вновь приливают 5 см<sup>3</sup> воды и т. д.; в общем промывание производят 4 раза. Последняя промывная вода должна быть совершенно бесцветной. К осадку приливают точно 4 см<sup>3</sup> марганцовокислого калия (4) из микробюретки и 1 см<sup>3</sup> серной кислоты (3), смешивают тонкой стеклянной палочкой и погружают на 45—60 секунд в кипящую водяную баню. Жидкость становится прозрачной и светлеет, но не обесцвечивается; только если количество калия резко увеличено, наступает обесцвечивание; тогда прибавляют еще 1 или 2 см<sup>3</sup> марганцовокислого калия и нагревают еще 30 секунд. Если не весь осадок окислен, жидкость остается мутной; в этом случае продолжают нагревание, пока жидкость не станет прозрачной (оставаясь светлорозовой). Если нагревание было слишком длительным, жидкость тоже мутнеет и приобретает коричневый оттенок. В этом случае титрование невозможно, так как будут получены слишком большие цифры. Приливают тотчас из второй микробюретки 2 см<sup>3</sup> щавелевой кислоты (5); жидкость совершенно обесцвечивается. После этого еще горячую жидкость титруют марганцовокислым калием из первой микробюретки до появления розового окрашивания, не исчезающего в теплом растворе в течение минуты.

Вычисление: 1 см<sup>3</sup> n/100 марганцовокислого калия окисляет двойную соль калия в количестве, соответствующем 0,071 мг калия. Из



общего количества марганцовокислого калия ( $4 \text{ см}^3 +$  количество, потраченное при титровании) вычитают прибавленную щавелевую кислоту ( $2 \text{ см}^3$ ) и еще  $0,06 \text{ см}^3$ , так как это количество марганцовокислого калия приходится затратить, чтобы вызвать появление розового окрашивания в воде. Разность умножают на 7,1 и получают количество миллиграммов калия в  $100 \text{ см}^3$  сыворотки. Указанное выше число  $0,071 \text{ мг}$  калия, которому соответствует  $1 \text{ см}^3$  п/100 раствора марганцовокислого калия, получено эмпирическим путем. Правильнее устанавливать его самому, пользуясь для этой цели чистыми растворами калия. Берут для определения раствор, содержащий точную навеску какой-либо соли калия, например,  $0,3815 \text{ мг}$  и  $0,773 \text{ мг}$  хлористого калия ( $= 0,2$  и  $0,4 \text{ К}$ ). Обработка, титрование и вычисление производятся так же, как описано выше.

Пример. К осадку было прибавлено  $4 \text{ см}^3$  марганцовокислого калия и после нагревания —  $2 \text{ см}^3$  щавелевой кислоты; при титровании был потрачен  $1 \text{ см}^3$  марганцовокислого калия. Содержание калия в  $100 \text{ см}^3$  сыворотки  $= (4 + 1 - 2 - 0,06) \times 7,1 = 20,87 \text{ мг}\%$ .

Нормальная сыворотка содержит  $17,5 - 22,5 \text{ мг}\%$  калия, цельная кровь —  $164 - 202 \text{ мг}\%$ , эритроциты — до  $440 \text{ мг}\%$ .

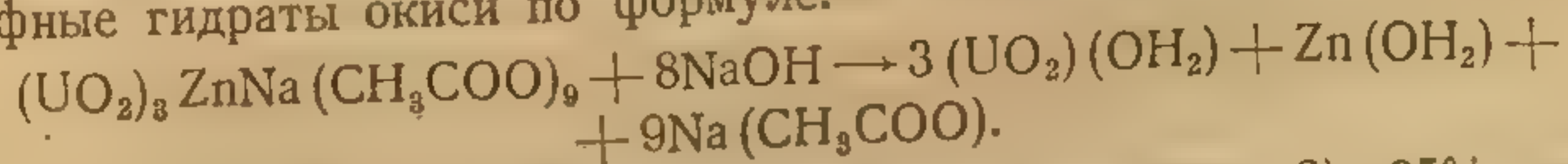
Диагностическое значение. Много внимания одно время уделяли соотношению между калием и кальцием в крови, так называемому калиево-кальциевому коэффициенту ( $\text{К/Са}$ ); можно принять, что в среднем  $\text{К/Са} = 2$ . Но количество того или другого электролита уже при физиологических условиях колеблется в довольно широких границах ( $17,5 - 22,5 \text{ мг}\%$  и  $9,0 - 11,6 \text{ мг}\%$ ). При патологических условиях количество калия и кальция в общем тоже остается в пределах нормальных границ или близ этих границ; значительное понижение или повышение, выходящее за пределы физиологических колебаний, наблюдается редко. К числу подобных колебаний, не выходящих за пределы физиологических границ, относятся следующие: понижение калия и повышение кальция встречаются при желтухах, особенно на почве закупорки желчных путей. Изменения одного только кальция без изменения количества калия, повидимому, отмечены лишь при тетании.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАТРИЯ

Натрий осаждают в виде тройной соли уксуснокислого цинк-уранил-натрия. Количество осажденного таким образом натрия можно определить либо путем титрования, либо колориметрически.

Ввиду того что из обыкновенного стекла легко выщелачивается натрий, все флаконы для реактивов необходимо облить изнутри парафином. Это проще всего производится следующим образом: в слегка разогретую бутылку наливают в соответствующем ее величине количестве расплавленный парафин и, быстро поворачивая бутылку во всех направлениях, наблюдают, чтобы парафин растекался по стенкам; избыток парафина выливают. По остывании образуется тонкая молочнобелая пленка парафина. Пробирки желательно иметь из иенского стекла.

Титрование производится едким натром; уранил и цинк образуют аморфные гидраты окиси по формуле:



Реактивы: 1)  $20\%$  трихлоруксусная кислота; 2)  $95\%$  спирт; 3)  $1\%$  спиртовой раствор фенолфталеина; 4) уксуснокислый цинк-уранил: а)  $77 \text{ г}$  уксуснокислого уранила  $(\text{UO})_2 (\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  и  $14 \text{ см}^3$  ледяной



уксусной кислоты растворяют в водяной бане приблизительно в 400 см<sup>3</sup> воды, повторно помешивая; переносят в мерную колбу емкостью в 500 см<sup>3</sup> и доводят до метки, ожидая охлаждения; б) 231 г уксуснокислого цинка  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$  и 7 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты растворяют при нагревании на водяной бане приблизительно в 400 см<sup>3</sup> воды, переносят в мерную колбу емкостью в 500 см<sup>3</sup> и доводят до метки, не выжидая охлаждения; оба раствора смешивают еще горячими, оставляют стоять 24 часа или дольше и фильтруют; 5) ацетоновый реактив для промывания: готовят небольшое количество уксуснокислого уранил-цинк-натрия, смешивая 15 см<sup>3</sup> уксуснокислого цинк-уранила (4) с 1 см<sup>3</sup> 5% раствора хлористого натрия и осаждая натрий 95% спиртом, прибавляемым постепенно; фильтруют сквозь маленькую бюхнеровскую воронку, промывают и высушивают несколько раз небольшими порциями спирта и 4—5 раз эфиром, отсасывая каждый раз до полной сухости; полученный сухой осадок прибавляют к 1 л ацетона, смешивают, оставляют стоять до следующего утра; насыщенный таким образом натрием ацетон не будет в дальнейшем при промывании осадка растворять его; 6) стандартный раствор натрия: отвешивают на аналитических весах точно 1 г химически чистого высушенного хлористого натрия, растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе емкостью в 1 л и доводят до метки; 1 см<sup>3</sup> этого раствора содержит 0,393 мг натрия; 0,5 см<sup>3</sup> его точно соответствуют 3,42 см<sup>3</sup> п/50 раствора едкого натра; 7) п/50 раствор едкого натра: готовят из п/10 раствора; раствор стоек.

Ход определения. Отмеривают в центрифужную пробирку 1,5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, спускают в нее взятые микропипеткой 0,1 см<sup>3</sup> сыворотки или цельной крови, прибавляют 0,4 см<sup>3</sup> трихлоруксусной кислоты (1), центрифугируют. Переносят 1 см<sup>3</sup> прозрачного раствора в другую центрифужную пробирку, добавляют 5 см<sup>3</sup> уксуснокислого уранил-цинка (4) и затем приливают 95% спирт отдельными порциями по 0,3 см<sup>3</sup> с промежутками сначала в 5 минут, затем несколько меньшими, всего 7 раз, т. е. 2,1 см<sup>3</sup>, что должно занять 30 минут. Центрифугируют на быстроходной центрифуге, сливают жидкость, опрокидывают пробирку на фильтровальную бумагу и дают стечь последней капле; вытирают фильтровальной бумажкой края пробирки. Промывают осадок один раз, взбалтывая его в 10 см<sup>3</sup> ацетонового реактива (5), центрифугируют и снова так же тщательно удаляют жидкость, как после первого центрифугирования. Осадок количественно переносят в эрленмейеровскую колбу емкостью в 100 см<sup>3</sup>, пользуясь для этого 4—5 порциями воды, доводят приблизительно до 50 см<sup>3</sup>, прибавляют 0,50 см<sup>3</sup> 1% раствора фенолфталина и титруют едким натром. Одновременно ставят слепой опыт.

Вычисление. Количество натрия в 100 см<sup>3</sup> крови (или сыворотки) в миллиграммах равно количеству потраченного п/50 раствора едкого натра минус количество, потраченное при титровании слепого опыта, умноженное на 115.

Число 115 получается на основании следующих соображений: из приведенной выше химической формулы видно, что 1 молекула натрия вступает в реакцию с 8 молекулами едкого натра, или, подставив молекулярные веса, 23 г натрия соответствуют 320 г едкого натра ( $40 \text{ г} \times 8$ ). 1 см<sup>3</sup> п/50 раствора едкого натра содержат 0,8 г едкого натра. Из уравнения  $x:0,8=23:320$  получаем, что 1 см<sup>3</sup> п/50 раствора едкого натра соответствует 0,0575 мг натрия. Отсюда, если при титровании крови было потрачено «а» см<sup>3</sup>, при титровании слепого опыта «б» см<sup>3</sup> едкого натра, то количество натрия во взятом для исследования количестве крови равно  $(a-b) \times 0,0575$ ; так как для исследования было взято



первоначально 0,1 см<sup>3</sup> сыворотки и затем половина исходного количества, то дальнейшей обработке подвергалось 0,05 см<sup>3</sup> сыворотки. Поэтому для вычисления содержания натрия в миллиграмм-процентах нужно полученную величину умножить на 2 000:

$$(a - b) \times 0,0575 \times 2\,000 = (a - b) \times 115.$$

Нормальная плазма или сыворотка содержит 300—350, в среднем 320 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> натрия; эритроциты — 40—130, в среднем 100 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>; цельная кровь — 180—240 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> натрия.

Диагностическое значение натрия не установлено. Определения натрия в настоящее время производятся главным образом для научных работ.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖЕЛЕЗА В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ

1) **Определение общего железа.** Железо в сыворотке трехвалентно (окисное), в отличие от железа гемоглобина, где оно двухвалентно (закисное). В сыворотке оно частично соединено с глобулином.

**Принцип.** Сыворотку сжигают и к раствору добавляют роданистый калий, который с солями окиси железа дает красную окраску (роданистое железо), годную для колориметрирования.

**Реактивы:** 1) серная кислота, химически чистая, концентрированная; 2) перекись водорода 30<sup>0</sup>/<sub>0</sub> (пергидроль); 3) насыщенный раствор надсернистого калия (K<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>): около 7 г чистого калия персульфата растворяют в 100 мл воды и сильно встряхивают; 4) стандартный раствор железа: 0,8635 чистых железоаммиачных квасцов [FeNH<sub>4</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·12H<sub>2</sub>O] свежеперекристаллизованных растворяют в 50 мл воды, добавляют 20 мл 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> чистой, свободной от железа; этот раствор переносят в литровую склянку и доливают водой до метки; 1 см<sup>3</sup> этого раствора содержит 0,1 мг железа; более слабый стандарт готовится разведением этого раствора (4а); 5) роданистый калий, 3п раствор: 146 г чистого роданистого калия (KCNS) растворяют в 300 мл воды в литровой колбе, добавляют 20 см<sup>3</sup> чистого ацетона, хорошо перемешивают и доводят до метки.

**Ход определения.** В круглодонную кьельдалевскую колбочку с меткой на 20 см<sup>3</sup> наливают 2 см<sup>3</sup> негемолизированной сыворотки, прибавляют 1,5 см<sup>3</sup> концентрированной H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; туда же бросают для более спокойного кипения стеклянную бусинку. Сжигают на песочной бане или на слабом пламени. Когда смесь хорошо обуглится, добавляют 0,5 мл 30<sup>0</sup>/<sub>0</sub> перекиси водорода и, если жидкость долго не просветляется, добавляют H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и сжигают до получения бесцветного раствора (обычно добавляют 3 раза). Одновременно сжигают и контроль (пустой опыт с реактивами). Когда содержимое колбочек делается совершенно бесцветным и прозрачным, его охлаждают, добавляют дистиллированной водой до метки и прибавляют 1 см<sup>3</sup> насыщенного раствора персульфата (3). Приготавливают стандарт, содержащий 0,5 см<sup>3</sup> раствора стандартного железа (4—4а), 1,5 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты, до 20 см<sup>3</sup> воды и 1 см<sup>3</sup> раствора персульфата (3). Все колбочки хорошо встряхивают, добавляют в каждую по 4 см<sup>3</sup> KCNS и снова хорошо смешивают. В контроле и опыте развивается красное окрашивание. Колориметрируют. После вычитания полученной величины в пустом опыте (возможная примесь железа в реактивах!) производят расчет обычным порядком.

**Диагностическое значение.** Нормально в сыворотке содержится 0,04—0,23 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, в среднем 0,13 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub> железа. При пернициозной



анемии количество слегка увеличивается, при успешном лечении — уменьшается. При гипохромной анемии количество железа уменьшено. При лечении препаратами железа его количество в сыворотке увеличивается. Иногда получается параллелизм между железом и билирубином сыворотки.

2) **Определение легко отщепляющегося железа.** Наряду с определением общего железа сыворотки или плазмы, некоторые авторы (Баркан) считают, что особый интерес представляет определение легко отщепляющегося железа, которое может дать представление о железе, идущем на построение гемоглобина.

Принцип. Сыворотка или плазма подвергается действию слабой соляной кислоты, затем белки осаждаются и в фильтрате определяется железо.

Реактивы: 1) 1,2%  $\text{HCl}$  (должна быть очень чистой); 2)  $\text{HCl}$  0,3%; готовится из первого реактива разведением в 4 раза; 3) 20% трихлоруксусная кислота; 4) раствор, содержащий 0,3%  $\text{HCl}$  и 20% трихлоруксусную кислоту; составляется из равных частей второго и третьего реактива; 5) стандартный раствор  $\text{m}/10^{-3}$  железа ( $\text{Fe}^{+++}$ ) в 0,3%  $\text{HCl}$ ; готовится из железоаммиачных квасцов невыветрившихся кристаллов: 0,4822 г растворяется в 1 л 0,3%  $\text{HCl}$ ; этот раствор содержит в 1  $\text{см}^3$   $1 \cdot 10^{-6}$  моля  $\text{Fe}^{+++}$  и служит основным раствором; из него по мере необходимости готовится рабочий стандартный раствор (5а) путем разведения 0,3%  $\text{HCl}$  в 10 раз; раствор стоек; 6) 10% раствор роданистого калия ( $\text{KCNS}$ ), 7) пероксидный эфир; 0,5  $\text{см}^3$  0,3% раствора  $\text{H}_2\text{O}_2$ , приготовленного из пергидроля, хорошо встряхивается в делительной воронке с 25  $\text{см}^3$  эфира (*pro parsosi*), отделяется от водной фазы. Его следует применять по возможности свежеприготовленным.

Ход анализа. 2  $\text{см}^3$  сыворотки или плазмы вносят в центрифужную пробирку; прибавляют 1  $\text{см}^3$  1,2%  $\text{HCl}$  и оставляют стоять в термостате при 37° на 1 час. Затем добавляют 1  $\text{см}^3$  20% трихлоруксусной кислоты и оставляют еще на 1 час при комнатной температуре. Центрифугируют или отфильтровывают от белкового осадка (через не содержащий железа фильтр), сливают прозрачный фильтрат. Для производства колориметрирования заготавливают 8 узких пробирок (строго одного диаметра) длиной около 10 см (диаметр 1 см) с хорошо притертыми пробками. В стандартные пробирки наливают стандартный раствор железа (5а) в возрастающих количествах — 0,05, 0,1, 0,015, 0,20 и т. д. (до 8 штук), добавляют 0,3%  $\text{HCl}$  до объема 0,5  $\text{см}^3$ . Сюда же прибавляют по 0,5  $\text{см}^3$  солянокислого раствора трихлоруксусной кислоты (4) и хорошо взбалтывают. После приготовления стандартного ряда в такую же пробирку отмеривают 1  $\text{см}^3$  центрифугата (равен 0,5  $\text{см}^3$  сыворотки). Во все пробирки вносят по 1  $\text{см}^3$  раствора 10% роданистого калия (6), хорошо встряхивают и быстро добавляют по 1  $\text{см}^3$  пероксидного эфира (7). Пробирки закрывают пробками и встряхивают (1—2 раза); затем пробки слегка приоткрывают (выход газа!) и снова закрывают. Через 2 минуты каждую пробирку встряхивают по 10 раз. После разделения фаз в ряде стандартов ясно видна убывающая окраска эфирного слоя. Путем сравнения цвета опытной пробирки со стандартной окраской находят соответствующую концентрацию железа; это бывает обычно 4—5-я пробирка от конца ряда. Если определение ведут в цельной крови, ряд стандартных пробирок делают более длинным.

3) **Диагностическое значение** в общем соответствует тому, что сказано про общее железо, только количество легко отщепляющегося железа значительно меньше (гаммы).



## ФЕРМЕНТЫ КРОВИ

1) **Определение липазы.** Принцип. Поверхностное натяжение водного раствора трибутирина, измеряемое по количеству капель, вытекающих из пипетки при определенных условиях, по мере расщепления трибутирина липазой, содержащейся в прибавленной сыворотке, приближается к поверхностному натяжению воды. Повторный подсчет количества капель дает, таким образом, возможность определить количество расщепленного трибутирина и тем самым судить об активности сывороточной липазы.

а) **Определение общего количества липазы.** Реактивы: 1) насыщенный раствор трибутирина. Продажные препараты трибутирина почти всегда нуждаются в тщательной очистке. Около 1 см<sup>3</sup> трибутирина сильно взбалтывают в делительной воронке в 300 см<sup>3</sup> дистиллированной воды; промывную воду и трибутирин спускают на влажный складчатый фильтр; делительную воронку несколько раз ополаскивают водой и переносят в нее при помощи пипетки большую масляную каплю, оставшуюся на фильтре. Вновь промывают водой, как было списано; повторяют промывание 6 раз. Масляная капля на фильтре постепенно уменьшается, так что во избежание полной потери ее приходится набирать ее в пипетку вместе с небольшим количеством воды. Очищенный таким образом трибутирин переносят в толстостенный флакон, наливают около 1 л воды и встряхивают в течение 2 часов в аппарате или на руках. Раствор хранят в холодильнике, но все же не более 2 дней; 2) фосфатный буферный раствор: а) 59,33 г двузамещенного фосфорнокислого натрия ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), высушенного, как описано на стр. 138, и превращенного в порошок, растворяют в мерной колбе емкостью в 1 л и доводят водой до метки; б) 45,33 г однозамещенного фосфорнокислого калия ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) точно так же растворяют в 1 л воды; в) 14 объемов раствора «а» смешивают с 1 объемом раствора «б»; полученный таким образом буферный раствор должен иметь  $\text{pH} = 8,1$ .

**Аппаратура.** Для счета капель пользуются капельной пипеткой Рона или сталагмометром Траубе. Первая дает обычно при 18° 90 — 100 капель воды и 154 капли насыщенного трибутирина. Счет капель проводят при вытекании жидкости от метки до метки. Сталагмометры имеются различных объемов (рис. 78 и 79). Пипетки укрепляют в штативе строго вертикально, надевают на верхний конец резинку и насасывают раствор трибутирина. После употребления их моют хромовосерной смесью (см. «Мытье стеклянной посуды»), тщательно споласкивают простой и дистиллированной водой и сушат.

Устанавливают количество капель, которое дает пипетка при наполнении растворами трибутирина различной концентрации при 18°. Эту стандартизацию пипетки производят следующим образом: приготовленный описанным выше способом раствор считается стопроцентным, из него приготавливают смесь с водой в соотношении от 90 см<sup>3</sup> трибутирина и 10 см<sup>3</sup> во-

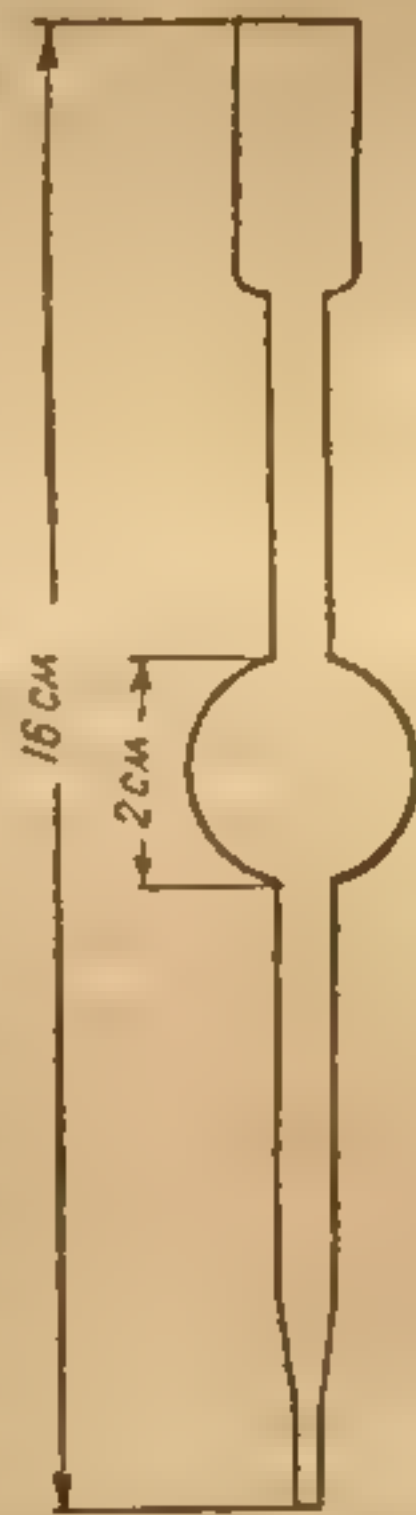


Рис. 78. Ста-  
лагмометр по  
Рону емко-  
стью 2 см<sup>3</sup>.  
Количество  
капель при  
20° около 90.



Рис. 79. Ста-  
лагмометр  
по Траубе.  
Изготавли-  
ваются различ-  
ной емкости.



ды, 80 см<sup>3</sup> трибутирина и 20 см<sup>3</sup> воды и т. д. до 10 см<sup>3</sup> трибутирина и 90 см<sup>3</sup> воды. Каждую из этих смесей, а также дистиллированную воду и насыщенный раствор трибутирина насасывают в пипетку и затем считают количество капель. Полученные результаты объединяют в кривую, причем ордината указывает количество капель, а абсцисса — концентрация трибутирина (рис. 80). Пользуясь этой кривой, можно для каждого количества капель установить концентрацию трибутирина в испытуемой смеси, а следовательно, и количество расщепленного трибутирина.

**Ход определения.** Отмеривают в стакан 25 см<sup>3</sup> насыщенного трибутирина (1) и 1 см<sup>3</sup> буферного раствора (2в) и хорошо смешивают. Когда все готово для определения, прибавляют к этой смеси 1 см<sup>3</sup> крови или сыворотки и тотчас насасывают в пипетку. Так как расщепление начинается тотчас, то счет капель должен последовать сразу вслед за

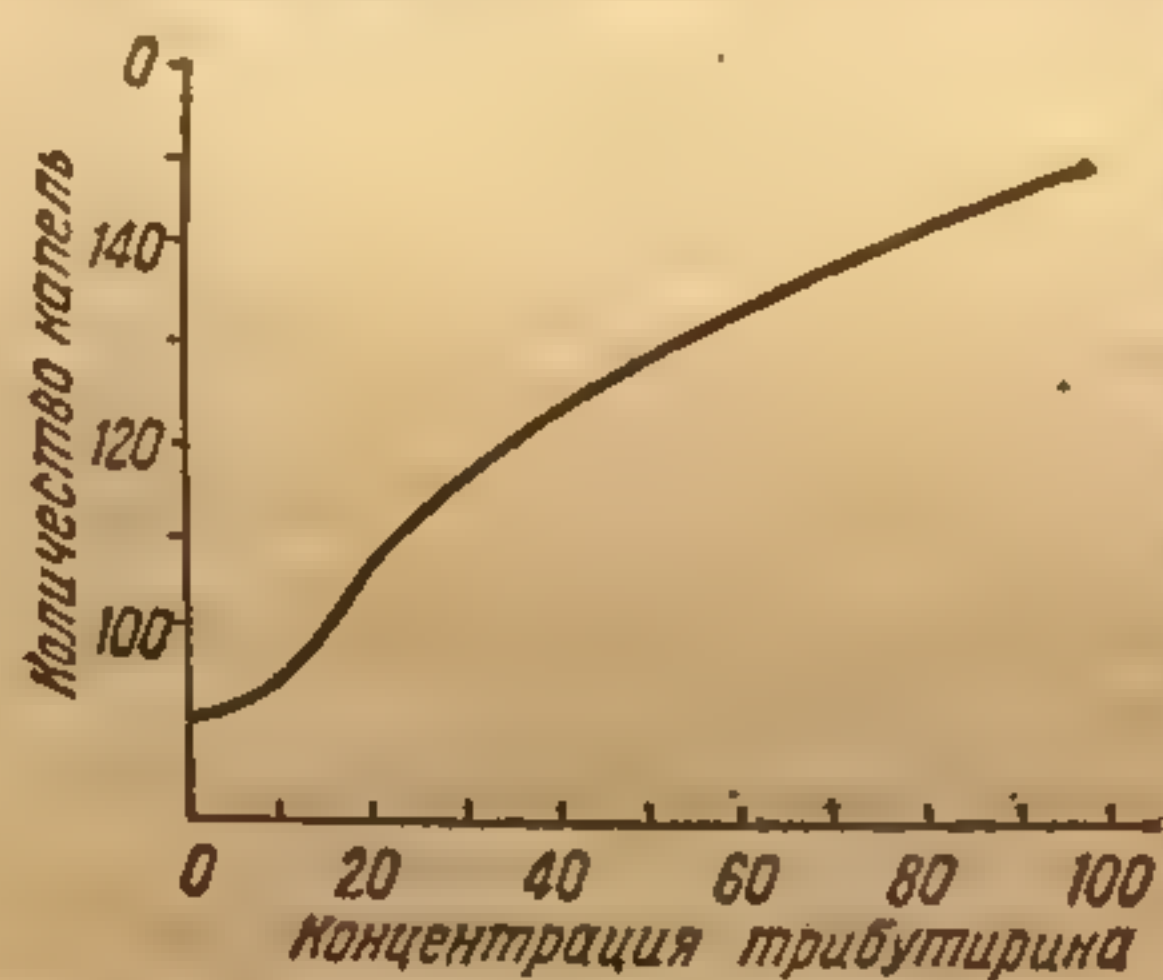


Рис. 80. Образец кривой, полученной при стандартизации сталагмометра.

прибавлением сыворотки. Счет повторяют каждые 5 минут в течение получаса. Необходимо ставить две пробы.

**Пример.** Тотчас после смешения — 141 капля 75% насыщения; спустя 15 минут — 134 капли 60% насыщения; спустя 30 минут — 129 капель 50% насыщения и т. д.

Количество липазы нередко повышено в начальных стадиях туберкулеза, при ожирении, иногда при диабете и рахите; оно уменьшено при тяжелом туберкулезе, кахексиях, интоксикациях, детских кишечных расстройствах и т. п.

**б) Определение атоксил-резистентной липазы.** Реактивы: 1) фосфатный буфер: 200 см<sup>3</sup> молярного раствора фосфорной кислоты смешивают с 387 см<sup>3</sup> нормального раствора едкого натра и доводят водой до 600 см<sup>3</sup>; 2) 2% водный раствор атоксила (р-аминофенилмышьяковистокислый натрий); 3) 100% раствор трибутирина: готовят, как было описано выше. Сталагмометр должен при 20° давать 59—60 капель дистиллированной воды. Его стандартизируют, как было описано.

**Ход определения.** В 2 колбочки отмеривают по 1,5 см<sup>3</sup> сыворотки и 1,5 см<sup>3</sup> буферного раствора (1); в одну из колбочек прибавляют 0,2 см<sup>3</sup> раствора атоксила (2), в другую — 0,5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды; оставляют стоять 30 минут при комнатной температуре. Прибавляют в обе колбочки по 25 см<sup>3</sup> раствора трибутирина (3) и считают число капель тотчас и через 90 минут стояния при комнатной температуре. При нормальных условиях разница в количестве капель между первым и вторым счетом не более 6; если имеется атоксил-резистентная липаза, то разность больше 6.

**Пример.** Количество капель в контрольной колбочке (без атоксила) уменьшилось на 19,6, в колбочке с атоксилом — на 5,8.

Повышенное количество атоксил-резистентной липазы отмечается при нарушении функции поджелудочной железы и при различных кишечных заболеваниях. Диагностическое значение этого определения оспаривается

**2) Определение каталазы.** Определение каталазы разработано Бахом и Зубковой; предложенный ими метод сам по себе очень точен, но должен выполняться чрезвычайно тщательно, так как иначе получаются значительные ошибки. Каталитический фермент крови содержится почти исключительно в эритроцитах (при этом не в гемоглобине, а в строме).



Количество его увеличивается или уменьшается при соответствующих колебаниях числа эритроцитов; поэтому необходимо каждый раз одновременно со взятием крови для определения каталазы точно сосчитать количество красных кровяных клеток, чтобы не принять случайного сгущения или разжижения крови за нарастание или падение ее каталитической способности. Надо помнить, что при определении числа эритроцитов необходимо учитывать многие и разнообразные источники ошибок: уже случайное и кратковременное нарушение кровообращения в капиллярах, вызванное измерением просвета приводящих артерий и артериол, венозным застоем и т. п., обуславливает значительные колебания количества эритроцитов в капиллярах; из сказанного выше ясно, что эти колебания неизбежно отражаются на количестве каталазы. Определив количество каталазы (каталазное число) указанным ниже способом, относят его к числу эритроцитов, т. е. составляют дробь, числителем которой служит найденное количество каталазы, а знаменателем — число красных кровяных клеток в миллионах в  $1 \text{ мм}^3$  (в капле крови, взятой каждый раз одновременно тут же, при совершенно неизменившихся условиях); эту дробь называют показателем каталазы, и только эти показатели каталазы, а не каталазные числа, можно сравнивать между собой.

Реактивы: 1)  $1\%$  раствор пергидроля; так как продажный пергидроль —  $30\%$ , то его разводят в 30 раз, т. е. к  $1 \text{ см}^3$  пергидроля прибавляют  $29 \text{ см}^3$  воды; раствор готовят каждый раз свежий; основной раствор пергидроля тоже нестойкий; 2)  $10\%$  раствор серной кислоты; 3)  $n/10$  раствор марганцовокислого калия.

Ход исследования. В небольшую колбочку отмеривают точно  $20 \text{ см}^3$  дистиллированной воды. Кровь берут из укола в палец или мочку уха, причем палец не обмывают ни спиртом, ни эфиром, которые изменяют просвет капилляров, а только стерильной дистиллированной водой и обсушивают ватой, избегая трения; ушную мочку не следует перегибать. Так как для исследования требуется  $20 \text{ мм}^3$  крови, то пользуются пипеткой, приложенной к гемометру типа Сали. Кровь выдувают в воду, обычным образом ополаскивая пипетку; при этом получается раствор крови  $1:1000$  (основной раствор). Момент разведения крови отмечают на часах. Заготавливают 4 колбочки, отмеривая в каждую  $7 \text{ см}^3$  дистиллированной воды; в две первые переносят по  $1 \text{ см}^3$  основного раствора крови (для параллельного определения); с двумя последними колбочками поступают точно так же, причем, однако, кипятят кровь в течение 2 минут для уничтожения фермента. Оставляют все 4 колбочки на 30 минут при комнатной температуре; небольшие колебания температуры в пределах  $2-3^\circ$  не имеют значения. Через указанный срок (считая с момента первого разведения крови) в каждую колбочку приливают точно по  $2 \text{ см}^3$  пергидроля (1), опять оставляют на 30 минут, быстро приливают по  $5 \text{ см}^3$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  (2) для прекращения действия фермента и титруют  $n/10$  раствором марганцовокислого калия (3) до появления стойкого розового окрашивания. Каталаза разлагает часть пергидроля; поэтому при титровании первых двух колб приходится потратить меньшее количество титрованного раствора, чем для двух последних; этой разностью пользуются для дальнейшего вычисления. Так как  $1 \text{ см}^3$   $n/10$  раствора марганцовокислого калия соответствует  $1,7 \text{ см}^3$   $1\%$  раствора пергидроля, то полученную разность умножают на 1,7 и получают каталазное число, из которого уже вычисляют показатель каталазы.

Диагностическое значение не выяснено.

3) Определение диастазы (амилазы) по Энгельгардту и Герчуку. Диастаза является ферментом, который вырабатывается главным образом



в поджелудочной железе, откуда поступает в кровь; кроме того, она вырабатывается в слюнных железах. Выделяется диастаза с мочой.

Принцип. Диастаза расщепляет крахмал при строго определенных условиях ( $\text{pH} = 6,5$ ) на более простые молекулы сахаров, и по количеству образовавшегося моносахарида судят об активности диастазы крови.

Реактивы: 1) свежеприготовленный перед опытом 0,3% раствор растворимого крахмала (высшего качества); навеску размешивают в холодной воде (в небольшом количестве), а затем доливают до 100 см<sup>3</sup> и кипятят; раствор нестойкий; 2) буферный раствор с  $\text{pH}$ , равным 6,5, состоящий из: а)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 9,078 г,  $\text{NaCl}$  — 4,5 г, дистиллированной воды — до 1 л; б)  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  — 11,876 г, дистиллированной воды — до 1 л; из растворов «а» и «б» готовится не реже одного раза в неделю раствор «в»; для него берут 2 части раствора «а» и одну часть раствора «б»; вместо раствора (2) можно употреблять: 3) буферный раствор по Кларку, состоящий из: а)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 13,616 г,  $\text{NaCl}$  — 4 г, дистиллированной воды — до 1 л; б)  $\text{p}/10$  раствор  $\text{NaOH}$ ; из обоих этих растворов каждую неделю готовят смесь «в», для чего берут 50 см<sup>3</sup> раствора «а» и прибавляют 16,6 см<sup>3</sup> раствора «б»; 4) толуол; 5) все реактивы, необходимые для определения сахара по Хагедорн-Иенсену.

Оборудование: все необходимое для определения сахара по Хагедорн-Иенсену.

Ход определения. В обыкновенную пробирку наливают 3 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, приливают 0,06 см<sup>3</sup> крови из микропипетки; пипетку несколько раз споласкивают той же водой (кровь в разведенном виде может храниться довольно долго, не изменяя своей активности); пробирку встряхивают и дают постоять несколько минут для окончания гемолиза. Далее прибавляют 3 см<sup>3</sup> буферной смеси (2в) или (3в). Из полученных 6 см<sup>3</sup> смеси наливают 2 новые пробирки по 2 см<sup>3</sup> в каждую: первая пробирка будет служить контролем, две другие — для опыта (параллельные определения).

При определении активности фермента готовят контроль: к контрольной пробирке прибавляют 5 см<sup>3</sup> 0,45% раствора  $\text{ZnSO}_4$ , 1 см<sup>3</sup>  $\text{p}/10$  раствора  $\text{NaOH}$  и 1 см<sup>3</sup> 0,3% раствора крахмала; смесь тщательно взбалтывают и тотчас же ставят (чтобы предотвратить расщепление крахмала) в кипящую водяную баню на 5 минут, после чего определяют сахар по Хагедорн-Иенсену. В опыте в обе пробирки наливают по 1 см<sup>3</sup> раствора крахмала (1), прибавляют по 1 капле толуола, перемешивают, затыкают пробирки пробками и ставят на 2 часа в термостат при 37°. По истечении 2 часов производят осаждение белков и определение сахара по Хагедорн-Иенсену.

Расчет. Полученные при титровании величины находят в таблице определения сахара (стр. 161), пересчитанной на 100 см<sup>3</sup> крови. Из количества сахара, найденного в опыте, вычитают количество, полученное при титровании контроля. Так как крови для определения сахара берут 0,1 см<sup>3</sup>, то полученную величину уменьшают в 1000 раз; исходя же из расчета, что крови для определения диастазы берут не 0,1, а 0,02 см<sup>3</sup>, полученную величину увеличивают в 50 раз и, таким образом, активность амилазы крахмала ферментом, находящимся в 1 см<sup>3</sup> крови.

Пример. При титровании опыта пошло 1,46 см<sup>3</sup> раствора гипосульфита, на контроль — 1,88 см<sup>3</sup>. Найденные в таблице значения соответствуют 1,46 = 97 мг%, 1,88 = 22 мг%; вычитая из опыта контроль, получают: 97 мг% — 22 мг% = 75 мг%; уменьшив в 1000 раз, получают 0,075 мг



в  $0,1 \text{ см}^3$  крови; увеличивая  $0,075$  в  $50$  раз, получают  $3,75 \text{ мг}$ . Эта цифра выражает активность диастазы в  $1 \text{ см}^3$  крови.

**Диагностическое значение.** Нормальная активность диастазы натошак колеблется от  $1$  до  $2,95 \text{ мг}$ . Низкая активность наблюдается у лиц с поражением желудка, поджелудочной железы и двенадцатиперстной кишки. Активность диастазы повышена при заболеваниях печени и желчного пузыря.

Как известно, выделение секретов пищеварительных желез является рефлекторным актом, т. е. поступление желчи из печеночных путей и желчного пузыря, секреция желудочного сока и двенадцатиперстной кишки усиливаются при воздействии раздражителя, в частности, пищи; одновременно в этот период наблюдается и уменьшение этих веществ в крови.

В 1-й хирургической клинике им. Н. Н. Бурденко была проведена работа по изучению диастазы крови после пищевой нагрузки (мясной завтрак), которая дала возможность считать определение диастазы одним из диагностических признаков недостаточности поджелудочной железы. Проба проводится следующим образом: утром натошак определяется в крови активность диастазы; затем дается мясная котлета с хлебом и через  $2$  часа снова определяется активность диастазы. В норме после завтрака активность диастазы в крови уменьшается. При нарушении функции поджелудочной железы и внутренних органов брюшной полости количество диастазы после завтрака увеличивается (см. статью Б. В. Лютровник в журнале «Хирургия» № 2—3, 1940).

**4) Определение фосфатазы.** Органические фосфорные соединения играют огромную роль во всех видах обменов. Их расщепление происходит под влиянием ферментных систем, активность которых может быть определена в крови. Различают фосфатазы активные в кислой или щелочной среде.

**а) Фосфатаза щелочная.** Принцип определения. Концентрация щелочной фосфатазы в сыворотке определяется по количеству неорганического фосфора, получаемого из глицерофосфата при действии на него сывороткой.

**Реактивы:** 1) основной раствор  $\beta$ -глицерофосфата; в мерную колбочку на  $100 \text{ см}^3$  наливают около  $30 \text{ см}^3$  дистиллированной воды, высыплют  $1 \text{ г}$   $\beta$ -глицерофосфата натрия и  $0,85 \text{ г}$  барбитуровокислого натрия (мединала); растворяют и доливают водой до метки, после чего насливают петролейный эфир около  $3 \text{ см}^3$ ; хранят в холодильнике; 2) щелочной рабочий раствор; в мерную колбочку на  $100 \text{ см}^3$ , содержащую  $3 \text{ см}^3$  петролейного эфира, вливают  $50 \text{ см}^3$  основного раствора и  $2,8 \text{ см}^3$   $\text{p}/10 \text{ NaOH}$ , доливают водный слой до метки;  $\text{pH}$  должен быть равен  $8,6$ ; хранят на льду; 3) трихлоруксусная кислота  $10\%$ ; 4) другие реактивы для определения неорганического фосфора (стр. 216).

**Ход определения.** Определение производится в свежей, без признаков гемолиза сыворотке. В две пробирки наливают по  $10 \text{ см}^3$  субстрата (2) и одну из них ставят в водяную баню при  $37^\circ$ ; после того как пробирка прогреется, осторожно наливают в нее  $1 \text{ см}^3$  сыворотки, смешивают, избегая аэрации, и оставляют в водяной бане на час. В другую пробирку доливают  $1 \text{ см}^3$  сыворотки и  $9 \text{ см}^3$  трихлоруксусной кислоты. Затем смешивают, фильтруют и в фильтрате определяют неорганический фосфор любым методом (контроль). Первую пробирку по прошествии часа вынимают из водяной бани, быстро охлаждают и приливают  $9 \text{ см}^3$   $10\%$  трихлоруксусной кислоты, хорошо смешивают и фильтруют. В фильтрате определяют неорганический фосфор.



**Вычисление.** Из величины неорганического фосфора, полученного из субстрата и сыворотки после стояния в течение часа при  $37^{\circ}$ , вычитают величину фосфора, полученную немедленно после смешивания сыворотки и субстрата. Активность щелочной фосфатазы получается в миллиграммах прироста неорганического фосфора на  $100 \text{ см}^3$  сыворотки. Эту величину обозначают в единицах. В норме щелочная фосфатаза у взрослых равна 2—4 единицам, а у детей — 5—15 единицам.

**Клиническое значение.** Повышение активности щелочной фосфатазы получается при заболеваниях костей: остеомалации, остеопорозе, опухолях костей, активном рахите и т. д. Иногда эта величина доходит до 100 единиц. Повышение активности щелочной фосфатазы наблюдается также при нарушениях функции печени, особенно после интоксикации (10 единиц и больше). Абсцессы и новообразования печени также дают повышение активности фосфатазы. При циррозах печени фосфатаза не повышается.

**б) Фосфатаза кислая.** Принцип определения тот же, что и при щелочной фосфатазе, только субстрат готовят кислый, устанавливая при приготовлении субстрата pH, равный 4,5—4,9, при помощи добавления нормальной уксусной кислоты.

**Реактивы:** 1) уксусная кислота нормальная; в литровую колбу вливают  $60 \text{ см}^3$  ледяной уксусной кислоты и доливают дистиллированной водой до метки (проверяют титр титрованием  $n/10 \text{ NaOH}$  и в случае необходимости корректируют его); 2) кислый рабочий раствор; в колбочку на  $100 \text{ см}^3$  вливают  $50 \text{ см}^3$  основного раствора  $\beta$ -глицерофосфата (см. выше), приливают  $5 \text{ см}^3$  нормальной уксусной кислоты, доливают водой до метки и наслаивают петролейный эфир; pH раствора должен быть равен 4,5—4,9 (при необходимости подкисляют  $n/10 \text{ HCl}$ ); хранят в холодильнике. Остальные реактивы те же, что и при определении щелочной фосфатазы.

**Ход определения и вычисление** те же, что и при щелочной фосфатазе. Количество единиц фосфатазы на  $100 \text{ см}^3$  сыворотки ниже, чем щелочной. Оно равно 0,04—0,64 единицы на  $100 \text{ см}^3$  крови. Клиническое значение: повышение активности кислой фосфатазы при нормальной величине щелочной фосфатазы указывает на новообразования в простатической железе. Особенно отмечается повышение активности фосфатазы при метастазах.

## РАСПОЗНАВАНИЕ АМИЛОИДА

**Принцип.** Введенная внутривенно краска конгорот через 4 минуты после инъекции равномерно смешана с плазмой; через 10 минут плазма начинает обесцвечиваться, и через 24 часа в крови не удастся обнаружить следов конгорота. Амилоидное вещество связывает конгорот, так что краска быстро исчезает из крови; вместе с тем она, в отличие от того, что наблюдается у здоровых, не появляется в моче. Поэтому преждевременное исчезновение конгорота из крови может служить для распознавания амилоида внутренних органов.

**Приготовление и дозировка краски.** Готовят 0,5% раствор краски в дистиллированной воде, стерилизуют двухминутным кипячением, дают остыть, фильтруют повторно через стерильный фильтр; хранят в эрленмейеровской колбе, на дне которой легко заметен вновь образовавшийся осадок; последний нужно отфильтровать. Желательно пользоваться раствором, приготовленным не более 12 часов назад. Этот раствор вводят больному в вену в количестве  $2 \text{ см}^3$  на каждые 10 кг веса; при среднем весе в 70 кг вводят, следовательно,  $14 \text{ см}^3$  0,5% раствора.



раствора. Нежелательно делать исследование вскоре после того, как больной ел жирную пищу.

Ход исследования. Перед впрыскиванием больной должен опорожнить мочевой пузырь. Введение краски должно быть выполнено быстро. Кровь берут 2 раза: спустя 4 минуты после введения краски берут 10 см<sup>3</sup> крови из вены второй руки; второй раз кровь берут через 60 минут после инъекции. Сыворотка не должна содержать следов гемолизированных эритроцитов. Для этой цели кровь из иглы спускают в парафинированную пробирку и тотчас центрифугируют 15 минут при 1500—2000 оборотах. Красные кровяные клетки образуют нижний слой; над ними во многих случаях образуется фибриновый сгусток, приставший к стенке пробирки. Его осторожно отделяют иглой, тщательно наблюдая, чтобы игла все время оставалась на 1 см выше клеточного слоя. Через некоторое время из фибринового сгустка отделяется прозрачная сыворотка; иногда она выделяется уже во время центрифугирования. Каплю сыворотки проверяют на часовом стекле с каплей бензидина (см. в разделе «Моча» — определение крози), реакция должна быть отрицательной. Если все же не удалось избежать гемолиза, но сыворотка содержит только небольшое количество гемоглобина, то можно спасти анализ, осадив белок: гемоглобин увлекается в осадок, и остается прозрачный фильтрат. К 4 см<sup>3</sup> сыворотки прибавляют столько же ацетона, тщательно взбалтывают, удаляют осадок фильтрованием или центрифугированием при 1500—2000 оборотах. Ацетон можно заменить спиртом, прибавляя его в четырехкратном объеме, например, к 2 см<sup>3</sup> сыворотки приливают 8 см<sup>3</sup> 95% или абсолютного спирта, закрывают пробкой, тщательно взбалтывают в течение 30 минут, центрифугируют. Отрицательная сторона осаждения спиртом заключается в слишком большом разведении сыворотки; это нежелательно, особенно в тех случаях, когда краски осталось мало.

Обе порции сыворотки, взятые, как указано выше, сравнивают в колориметре и определяют, на сколько процентов вторая проба бледнее первой. Сравнение может быть произведено в любом колориметре — Дюбоска, Аутенрита и даже в простом гемометре Сали. В последнем случае пробирку с солянокислым гематином заменяют пробиркой со второй порцией сыворотки; в пробирку, предназначенную для крови, точно отмеривают небольшое количество сыворотки первой пробы и разводят водой до одинаковой интенсивности окрашивания. Отмечают степень разведения. Если сравнение затруднительно, вследствие слишком большой разницы в интенсивности окраски, более окрашенную пробу предварительно разводят в несколько раз водой. Можно также прибавить к каждой из порций по 2 капли концентрированной соляной кислоты и колориметрировать вместо красных растворов синие, что удобнее. Прибавлением соляной кислоты иногда можно спасти пробу, в которой произошел небольшой гемолиз; при колориметрировании синего цвета гемолиз не мешает.

Прозрачную окрашенную жидкость переносят в стаканчики колориметра; первую порцию (4-минутную) устанавливают на 20 мм.

Вычисление.  $100 - \left( \frac{B_{ст}}{B_x} \times 100 \right) =$  связывание амилоида в процентах, где  $B_{ст} = 20$  (см. выше),  $B_x$  — положение второго стаканчика при одинаковой интенсивности окраски.

У здоровых сыворотка через 60 минут (вторая порция) содержит на 20% (11—29,3) меньше краски, чем первая. В случаях амилоида внутренних органов сыворотка второй порции содержит только 40% или еще меньше краски. Потеря 60% краски и более считается характерным признаком амилоида; потеря от 40 до 60% наблюдается и при нефрозах.



Однако при нефрозах в отличие от амилоида большое количество краски выделяется с мочой, тогда как при амилоиде моча либо вовсе не содержит краски, либо содержит ее в ничтожном количестве.

Чтобы открыть краску в моче, пропускают мочу сквозь фильтр; в присутствии краски фильтр окрашивается в красный цвет, который от капли соляной кислоты переходит в синий. У здоровых краска в моче появляется в относительно небольшом количестве: фильтр окрашивается

только, если через него было пропущено 100—300 см<sup>3</sup> мочи; при нефрозах различного происхождения моча иногда темнокрасного цвета, который при прибавлении соляной кислоты переходит в синий. Таким образом, комбинация быстрого, хотя и более медленного, чем при амилоиде (40—60%), исчезновения краски из сыворотки с появлением ее в моче в повышенном количестве характерна для нефрозов.

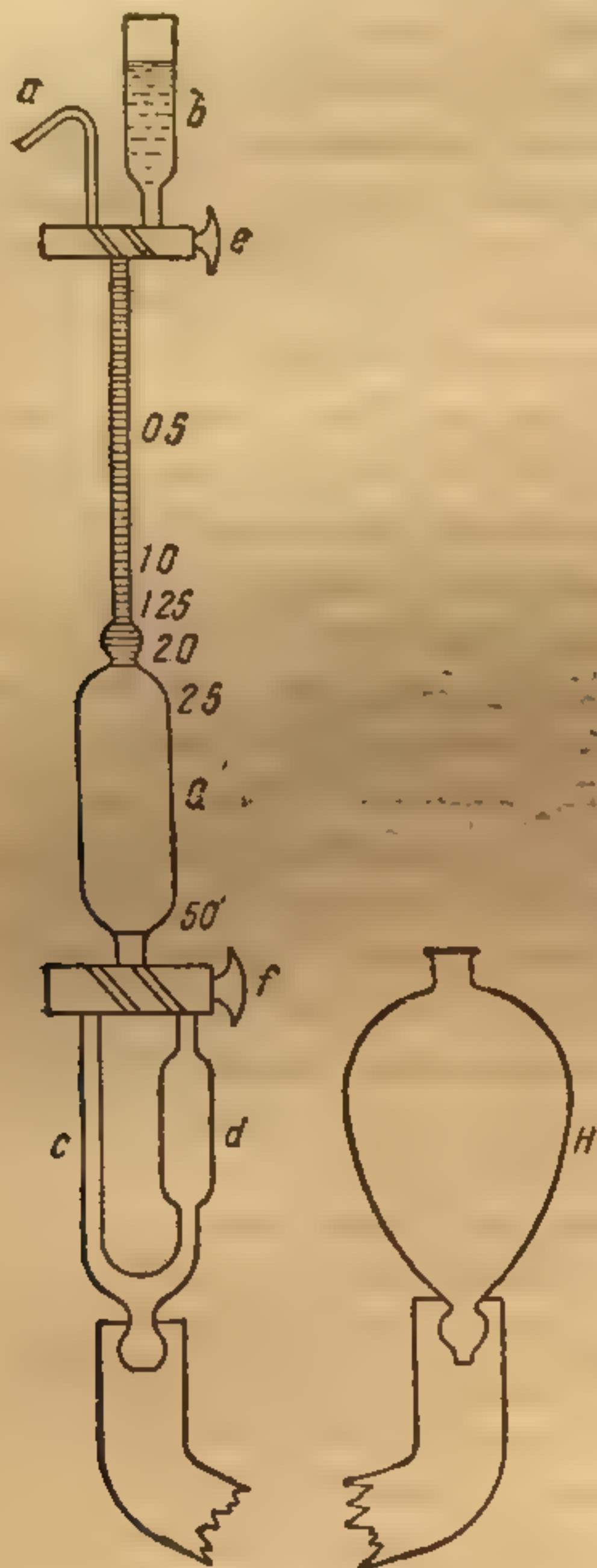


Рис. 81. Прибор ван Слайка для определения резервной щелочности.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГАЗОВ КРОВИ

1) **Определение щелочного резерва плазмы по ван Слайку.** Принцип. Вся углекислота, связанная плазмой, находящейся в равновесии с углекислотой альвеолярного воздуха (содержащего 5,5% углекислоты), вытесняется более сильной кислотой в разреженном пространстве, после чего измеряют объем выделившейся углекислоты при атмосферном давлении.

Требуемое количество крови: около 3 см<sup>3</sup> плазмы, что соответствует приблизительно 6—8 см<sup>3</sup> оксалатной крови.

Реактивы: 1) приблизительно 1% раствор аммиака, не содержащий углекислоты; ко всему количеству 1% раствора аммиака прибавляют немного насыщенного раствора едкого бария; осадок, состоящий из углекислого бария, отфильтровывают, избыточный барий осаждают небольшим количеством сернокислого аммония и отфильтровывают; 2) октиловый спирт или обыкновенный каприловый спирт; 3) 10% серная кислота; 4) металлическая ртуть в количестве

не менее 1,5 кг. Ртуть должна быть чистой и сухой (см. «Очистка ртути»).

Оборудование: 1) пробирки для центрифуги с притертой стеклянной пробкой; 2) шприц на 10 см<sup>3</sup>; 3) точная пипетка Мора емкостью в 1 см<sup>3</sup>; 4) аппарат ван Слайка; 5) прибор для насыщения крови углекислотой.

Аппарат ван Слайка (рис. 81) состоит по существу из пипетки емкостью 50 см<sup>3</sup>; верхняя часть ее, вытянутая в узкую трубку, вмещает 1 см<sup>3</sup> и градуирована на 0,2 см<sup>3</sup>. Диаметр этой части пипетки должен быть таков, чтобы на протяжении 1 мм вмещалось 0,01 см<sup>3</sup>; средняя несколько более широкая часть пипетки имеет метки при 1,25, 1,5, 2 и 2,5 см<sup>3</sup>; в конце широкой части имеется метка на уровне 50 см<sup>3</sup>. Вверху и внизу пипетка закрывается плотно притертыми кранами с двумя параллельными ходами. Верхний кран *e* соединяет капиллярную часть пипетки с отводной трубкой *a* или с градуированной воронкой *b*. Он служит для



введения в аппарат плазмы и реактивов. Нижний кран *f* соединяет пипетку с двумя запасными резервуарами, из которых более широкий *d* служит для жидкости после изгнания из нее углекислоты, а через более узкий, левый, *c*, ртуть по окончании исследования поднимают кверху, чтобы заполнить разреженное пространство. Ходы в этом кране делают в 0,3 мм диаметра. Оба резервуара внизу соединены между собой U-образно. Эта часть аппарата переходит в короткую стеклянную трубку, приспособленную для прочного укрепления толстостенной резиновой трубки диаметром около 5 мм. Резиновая трубка соединяет аппарат с грушевидной стеклянной воронкой *H*; длина резиновой трубки около 1 м. Оба крана, в особенности нижний *f*, испытывают во время работы сильное давление ртути и поэтому укреплены резиновыми петлями или, предпочтительно, прочными металлическими пружинами. Краны необходимо смазывать, но следует избегать при этом избытка смазки и попадания ее

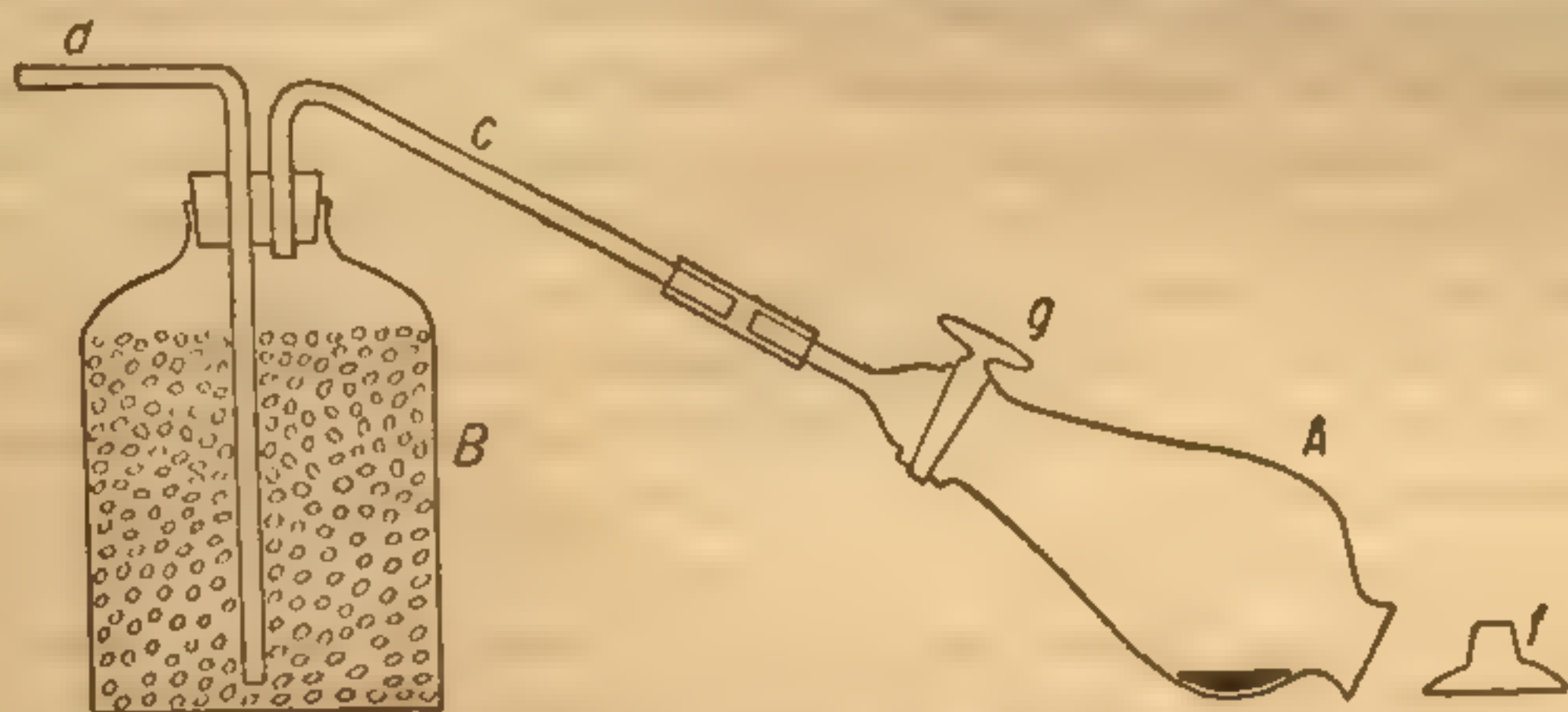


Рис. 82. Приспособление для насыщения крови углекислотой.

внутри аппарата. Весь аппарат должен быть сделан из толстого стекла. Его укрепляют на тяжелом металлическом штативе посредством прочных металлических зажимов, лапки которых обтянуты резиной. Грушевидная воронка помещается в металлическом кольце, имеющем сбоку щель, через которую воронку можно вынимать и вставлять.

Перед тем как укрепить на нижнем конце аппарата резиновую трубку, его моют хромовосерной смесью (см. «Общие указания для химического исследования», стр. 131), тщательно ополаскивают простой и дистиллированной водой и сушат в термостате; сушить лучше, вынув краны.

Для насыщения плазмы углекислотой нужен еще особый прибор, который легко собрать самому (рис. 82). Стеклянную банку наполняют почти доверху стеклянными или фарфоровыми бусами и плотно закрывают резиновой пробкой, сквозь которую проходят две стеклянные трубки: одна из них доходит почти до дна банки, другая заканчивается непосредственно под пробкой. Наружные концы обеих трубок загнуты под прямым углом; конец второй (короткой) трубки посредством резиновой трубки соединен с концом шарообразной делительной воронки емкостью около 300 см<sup>3</sup>.

Для впуска плазмы в аппарат удобно иметь пипетку с двумя метками, так как в имеющихся условиях было бы весьма трудно принимать обычные меры опорожнения кончика. Кроме того, чтобы выливающаяся из пипетки плазма во избежание соприкосновения с воздухом все время оставалась под слоем аммиака, желательно, чтобы пипетка плотно упиралась в горлышко воронки над краном. С этой целью на кончик пипетки надевают плотно охватывающий ее кусочек мягкой резиновой трубки; нижний край резины слегка стирают наждачной бумагой, чтобы слой резины утончался постепенно.



Ход определения. Кран *e* ставят на соединение с воронкой *b*, кран *f* поворачивают так, чтобы пипетка была соединена с резервуаром *d*. В воронку *H* выливают всю ртуть, берут воронку в левую руку и держат ее на такой высоте, чтобы ртуть медленно поступала в аппарат. Когда ртуть поднялась выше крана *f*, его поворачивают на соединение с частью *c*, так что ртуть заполняет и эту часть прибора. Когда капля ртути показалась в *b*, кран *e* переводят на соединение с трубкой *a* и выпускают туда тоже каплю ртути; после этого кран *e* закрывают. Воронку *H*, в которой должно оставаться около  $\frac{1}{8}$  ртути, медленно опускают, причем опускается и ртуть в приборе. Если ни в самом приборе, ни в резиновой трубке не оставалось воздуха и оба крана хорошо притерты, ток воздуха не может поступить в прибор извне, и в градуированной части его образуется разреженное пространство. Воронку со ртутью опять поднимают; при этом ртуть, ударяясь о кран *e*, издает громкий, ясный металлический звук, служащий доказательством того, что воздуха краны не пропускают и аппарат пригоден для работы. Но обычно, когда аппарат только что наполнен ртутью, в нем содержится много воздуха; в момент разрежения пузырьки воздуха поднимаются кверху под кран *e*, вследствие чего металлического звука не получается; поднимая воронку *H*, дают воздуху выйти в воронку *b*; посредством повторного опускания и поднятия ртути в аппарате удаляют из него весь воздух. Только после этого можно приступить к самому определению.

Взятие крови. Кровь берут из локтевой вены, по возможности не вызывая в ней застоя; если же наложение жгута необходимо, то его снимают, как только игла проникла в вену, и первых капель не берут для определения. Лучше брать кровь шприцем. Из шприца кровь выливают в стеклянную пробирку для центрифуги, на дне которой помещено несколько мелко истолченных кристалликов щавелевокислого калия (около 25 мг на 5 см<sup>3</sup> крови). Лучше приготовить пробирку, на стенках которой имеется тонкий слой щавелевокислого калия, как описано на стр. 153 (см. «Предупреждение свертывания»). Кровь должна почти наполнить пробирку, после чего пробирку закрывают стеклянной пробкой и несколько раз переворачивают, чтобы щавелевокислый калий смешался с кровью.

Если кровь берут без шприца, то пробирку держат так, чтобы кровь падала прямо на дно пробирки, а не размазывалась по стенкам. По смешении с щавелевокислым калием кровь немедленно центрифугируют; плазму отсасывают и переносят в делительную воронку для насыщения  $\text{CO}_2$ .

Для насыщения плазмы углекислотой исследующий обычно пользуется своим собственным альвеолярным воздухом. Открывают сначала кран делительной воронки, затем вынимают пробку и, взяв в рот конец более длинной стеклянной трубки, медленно выдыхают воздух после обыкновенного, неусиленного вдоха. Воздух, пройдя через стеклянные бусы и отдав им содержащуюся в нем влагу, поступает в делительную воронку; воздух в последней, следовательно, заменяется альвеолярным воздухом, содержащим 5,5% углекислоты. Непосредственно перед окончанием выдоха закрывают пробку воронки и поворачивают кран; несколькими вращательными движениями распределяют плазму по стенкам воронки так, чтобы она покрыла возможно большую поверхность и лучше насытилась углекислотой. Процедуру выдыхания повторяют несколько раз, после чего закрывают с обеих сторон воронку и устанавливают ее на несколько минут вертикально, чтобы плазма собралась на дне ее. После этого плазма готова для исследования.

В воронку *b* наполненного ртутью аппарата наливают аммиака (1), чтобы ополоснуть им стенки; на дне воронки должно находиться

неско  
новой  
блени  
плазм  
1 см<sup>3</sup>  
жен  
прик  
и мед  
амми  
сколь  
Туда  
кипяч  
неско  
леньк  
слот  
выдел  
сыван  
до 2  
личес  
чтоб  
новой  
доше  
мов и  
Вновь  
опуск  
колич  
не пе  
време  
маетс  
части  
той. Н  
6—10  
пилля  
занят  
оконч  
С  
кой и  
кран  
вылив  
неско  
водой  
лакму  
Обыч  
водят  
спуск  
ясный  
ное)  
получ  
средн  
прове  
счита  
чина.  
В  
в пла



несколько капель ртути; удаляют этот аммиак пипеткой и заменяют его новой порцией аммиака, от которой отсасывают столько, чтобы в углублении воронки оставалось его около  $0,5 \text{ см}^3$ . Насыщенную углекислотой плазму набирают в точную моровскую пипетку (см. выше) и спускают  $1 \text{ см}^3$  плазмы в воронку *b*; при этом конец пипетки должен быть погружен в аммиак так, чтобы плазма попала под аммиак и не пришла в соприкосновение с наружным воздухом. Краны *e* и *f* осторожно открывают и медленно опускают воронку *H* с ртутью так, чтобы плазма и часть аммиака перешли в капиллярную часть аппарата. Кран *e* закрывают. Несколько капель аммиака должно оставаться в воронке *b* над краном. Туда же наливают около  $0,5 \text{ см}^3$  дистиллированной воды, освобожденной кипячением от углекислоты, и также всасывают ее в аппарат, оставляя несколько капель над краном; кран *e* закрывают. Наливают туда же маленькую каплю ( $0,02 \text{ см}^3$ ) октилового спирта и  $0,5 \text{ см}^3$   $10\%$  серной кислоты и всасывают жидкость в аппарат. Тотчас же начинается обильное выделение углекислоты. В воронку наливают около  $0,5 \text{ см}^3$  воды и всасывают столько, чтобы общий уровень жидкости в аппарате дошел до  $2,5 \text{ см}^3$ , так как таблица составлена применительно к этому количеству жидкости. Кран *e* закрывают. В воронку *b* вносят каплю ртути, чтобы обеспечить непроницаемость крана *e*, и плотно закрывают ее резиновой пробкой. Воронку *H* опускают настолько, чтобы уровень ртути дошел до метки 50, закрывают кран *f*, вынимают весь аппарат из зажимов и переворачивают его раз 15—20, так чтобы жидкости смешались. Вновь укрепляют аппарат на штативе. Осторожно открывают кран *f* и опускают воронку *H* так, чтобы жидкость спустилась в колено *d*; небольшое количество ее, однако, должно остаться над краном, так чтобы газ отнюдь не перешел в *d*. Воронку *H* немного поднимают, поворачивая в то же время кран *f* для соединения *G* и *c*; при этом ртуть по колену *c* поднимается обратно в пипетку и наполняет ее целиком, за исключением той части градуированного отрезка, которая занята освободившейся углекислотой. Над столбиком ртути остается жидкость, не спущенная в *d* (около 6—10 мм). Держат воронку *H* так, чтобы уровень ртути в ней и в капиллярной части пипетки был на одной высоте, и отмечают объем, занятый газом, с точностью до  $0,01 \text{ см}^3$ . Тем самым исследование окончено.

Оба крана открывают. Кран *e* ставят на соединение с отводной трубкой и выливают через нее жидкость и немного ртути, поворачивают кран *e*, вливают через воронку *b* немного разведенной серной кислоты, выливают ее через *a*, повторяют это ополаскивание несколько раз, затем несколько раз ополаскивают сначала простой, а потом дистиллированной водой, пока вытекающая вода не перестает давать кислой реакции на лакмус, и приступают к проверке аппарата, как перед началом работы. Обычно ртуть оказывается влажной; тогда небольшое количество ее выводят в воронку *b*, отсасывают влагу фильтровальной бумагой, вновь спускают в аппарат, разрежают воздух и т. д., и когда ртуть опять дает ясный металлический звук, то сейчас же производят второе (параллельное) исследование с остатком плазмы в делительной воронке; из двух полученных результатов, которые обычно почти вполне совпадают, берут среднюю величину. Как и при других исследованиях, здесь необходимо провести пустой опыт с одними реактивами и полученный результат вычитать из основного опыта. Обычно это бывает незначительная величина.

**Вычисление.** Определение количества углекислоты, содержащейся в плазме, после приведения ее в состояние газового равновесия с аль-



веоларным воздухом (способность плазмы связывать углекислоту, производится для температуры воздуха от 15° до 30° по следующей формуле:

$$X = \frac{B}{760} \times (100,8 - 0,27 \times t) (V - 0,136 + 0,002 \times t),$$

где  $X$  означает количество кубических сантиметров  $\text{CO}_2$  (приведенное к 0° и 760 мм), которое 1 см<sup>3</sup> испытуемой плазмы, если она находится при 20° в состоянии равновесия с воздухом, содержащим 5,5%  $\text{CO}_2$ , может связать в виде бикарбоната;  $B$  означает состояние барометра;  $t$  — температура воздуха, при которой было произведено исследование;  $V$  — измеренный в аппарате объем углекислоты.

Ван Слайк и Куллен разработали таблицу (табл. 36), по которой можно по произведению  $V \times \frac{B}{760}$  найти число кубических сантиметров  $\text{CO}_2$ , которые 100 см<sup>3</sup> плазмы могут связать в виде бикарбоната при температуре 0° и 760 мм барометрического давления. Для промежуточной температуры берут среднюю величину. Величина коэффициента  $\frac{B}{760}$  приведена в табл. 35.

Таблица 35

$B$ (давление барометра во время исследования)	$\frac{B}{760}$	$B$ (давление барометра во время исследования)	$\frac{B}{760}$
732	0,961	756	0,995
734	0,966	758	0,997
736	0,967	760	1,000
738	0,971	762	1,003
740	0,974	764	1,006
742	0,976	766	1,008
744	0,979	768	1,011
746	0,981	770	1,013
748	0,984	772	1,016
750	0,987	774	1,018
752	0,989	776	1,021
754	0,992	778	1,024

**Диагностическое значение.** У здоровых взрослых обычно щелочный резерв (AR) колеблется от 70 до 50 см<sup>3</sup>, у детей несколько ниже — от 65 до 45 см<sup>3</sup> (в среднем 56) на 100 см<sup>3</sup> плазмы.

Более низкие цифры называют ацидозом, более высокие — алкалозом. Различают компенсированный и некомпенсированный ацидоз и алкалоз.

Изучение щелочно-кислотного равновесия, в особенности определение ацидоза, приобрело в клинике весьма большое значение. Как известно, активная реакция крови (концентрация водородных ионов, pH) — величина весьма стойкая. Хотя при произвольно избранной смешанной пище в организм всегда вводится (и в нем образуется) больше кислых веществ, чем щелочных, pH крови все же удерживается на уровне 7,35 с колебаниями  $\pm 0,05$ . То же наблюдается и во время различных заболеваний, сопровождающихся усиленным образованием кислот. Так, например, при диабете, несмотря на образование в большом количестве ацетоуксусной,  $\beta$ -оксимасляной и других кислот, и при нефрите, несмотря на задержку в организме кислых фосфатов, реакция крови остается слабо щелочной; только в последнем периоде болезни описано понижение ее pH. Нарушение щелочно-кислотного равновесия, следовательно, обычно



Таблица 36

$V \times \frac{B}{760}$	100 см <sup>3</sup> плазмы связывают в виде бикарбоната CO <sub>2</sub> (в см <sup>3</sup> ) при 0° и 760 мм				$V \times \frac{B}{760}$	100 см <sup>3</sup> плазмы связывают в виде бикарбоната CO <sub>2</sub> (в см <sup>3</sup> ) при 0° и 760 мм			
	15°	20°	25°	30°		15°	20°	25°	30°
0,20	9,1	9,9	10,7	11,8	0,61	48,7	49,0	49,4	49,5
0,21	10,1	10,9	11,7	12,6	0,62	49,7	50,0	50,4	50,4
0,22	11,0	11,8	12,6	13,5	0,63	50,7	51,0	51,3	51,4
0,23	12,0	12,8	13,6	14,3	0,64	51,6	51,9	52,2	52,3
0,24	13,0	13,7	14,5	15,2	0,65	52,6	52,8	53,2	53,2
0,25	13,9	14,7	15,5	16,1	0,66	53,6	53,8	54,1	54,1
0,26	14,9	15,7	16,4	17,0	0,67	54,5	54,8	55,1	55,1
0,27	15,9	16,6	17,4	18,0	0,68	55,5	55,7	56,0	56,0
0,28	16,8	17,6	18,3	18,9	0,69	56,5	56,7	57,0	56,9
0,29	17,8	18,5	19,2	19,8	0,70	57,4	57,6	57,9	57,9
0,30	18,8	19,5	20,2	20,8	0,71	58,4	58,6	58,9	58,8
0,31	19,7	20,4	21,1	21,7	0,72	59,4	59,5	59,8	59,7
0,32	20,7	21,4	22,1	22,6	0,73	60,3	60,5	60,7	60,6
0,33	21,7	22,3	23,0	23,5	0,74	61,3	61,4	61,7	61,6
0,34	22,6	23,3	24,0	24,5	0,75	62,3	62,4	62,6	62,5
0,35	23,6	24,2	24,9	25,4	0,76	63,2	63,3	63,6	63,4
0,36	24,6	25,2	25,8	26,3	0,77	64,2	64,3	64,5	64,3
0,37	25,5	26,2	26,8	27,3	0,78	65,2	65,3	65,5	65,3
0,38	26,5	27,1	27,7	28,2	0,79	66,1	66,2	66,4	66,2
0,39	27,5	28,1	28,7	29,1	0,80	67,1	67,2	67,3	67,1
0,40	28,4	29,0	29,6	30,0	0,81	68,1	68,1	68,3	68,0
0,41	29,4	30,0	30,5	31,0	0,82	69,0	69,1	69,2	69,0
0,42	30,3	30,9	31,5	31,9	0,83	70,0	70,0	70,2	69,9
0,43	31,3	31,9	32,4	32,8	0,84	71,0	71,0	71,1	70,8
0,44	32,3	32,8	33,4	33,8	0,85	71,9	72,0	72,1	71,8
0,45	33,2	33,8	34,3	34,7	0,86	72,9	72,9	73,0	72,7
0,46	34,2	34,7	35,3	35,6	0,87	73,9	73,9	74,0	73,6
0,47	35,2	35,7	36,2	36,5	0,88	74,8	74,8	74,9	74,5
0,48	36,1	36,6	37,2	37,4	0,89	75,8	75,8	75,8	75,4
0,49	37,1	37,6	38,1	38,4	0,90	76,8	76,7	76,8	76,4
0,50	38,1	38,5	39,0	39,3	0,91	77,8	77,7	77,7	77,3
0,51	39,1	39,5	40,0	40,3	0,92	78,7	78,6	78,7	78,2
0,52	40,0	40,4	40,9	41,2	0,93	79,7	79,6	79,6	79,2
0,53	41,0	41,4	41,9	42,1	0,94	80,7	80,5	80,6	80,1
0,54	42,0	42,4	42,8	43,0	0,95	81,6	81,5	81,5	81,0
0,55	42,9	43,3	43,8	43,9	0,96	82,6	82,5	82,4	82,0
0,56	43,9	44,3	44,7	44,9	0,97	83,6	83,4	83,4	82,9
0,57	44,9	45,3	45,7	45,8	0,98	84,5	84,4	84,3	83,8
0,58	45,8	46,2	46,6	46,7	0,99	85,5	85,3	85,2	84,8
0,59	46,8	47,1	47,5	47,6	1,00	86,5	86,2	86,2	85,7
0,60	47,7	48,1	48,5	48,6					

компенсируется, и поэтому определение концентрации водородных ионов крови только в самых редких случаях дает отклонение от нормы, а следовательно, не может служить ценным диагностическим методом. Составить суждение о степени отклонения от нормального обмена можно только, измеряя работу тех регуляторных механизмов, которые обеспечивают постоянство pH. Таких механизмов имеется несколько. С одной стороны, избыток кислоты быстро выделяется через легкие и почки, отчасти также через кишечник и кожу; с другой стороны, в самой крови имеются регуляторные приспособления для удержания ее реакции на постоянном уровне. Легочная регуляция состоит в том, что кровь более кислой реакции, раздражая дыхательный центр, вызывает усиление



легочной вентиляции, вследствие чего выделение углекислоты повышается и нормальная реакция крови восстанавливается; точно так же повышение щелочности крови ведет к уменьшению легочной вентиляции и накоплению  $\text{CO}_2$  в крови. Этот регуляторный механизм вступает в действие чрезвычайно быстро. Деятельность его можно учесть, определяя содержание  $\text{CO}_2$  в альвеолярном воздухе, но это обычно не входит в круг работы клинической лаборатории. Не менее значительна роль почек. Избыточные кислоты нейтрализуются аммиаком и выделяются в виде солей. Поэтому можно составить суждение о количестве имеющихся в организме избыточных кислот по количеству аммиака в моче: если в организм было введено или в нем образовалось много кислоты, то количество аммиака в моче может дойти до нескольких граммов в сутки; при этом реакция мочи, однако, не становится щелочной (см. «Реакция мочи» и «Определение аммиака в моче»). Если же в организм поступает с пищей много щелочи, то аммиак содержится в моче только в виде следов. Кроме того, здоровые почки выделяют накапливающиеся в крови кислые фосфаты. В самой крови избыток кислот связывается в первую очередь содержащимися в крови бикарбонатами, а затем и фосфатами; последние содержатся в крови главным образом в виде думетальных фосфатов, которые при прибавлении более сильной кислоты переходят в однометальные, освобождая основание, нейтрализующее кислоту. Таким образом, если к плазме прибавить соляную кислоту, то из бикарбонатов и фосфатов плазмы образуется хлористый натрий и освобождается углекислота, выделяемая легкими, и кислые фосфаты, выделяемые почками. Чем больше поступило или образовалось кислот, тем больше бикарбонатов крови затрачивается для связывания их, тем меньше, следовательно, их остается в плазме. В аппарате ван Слайка мы определяем количество бикарбонатов плазмы по количеству углекислоты, отщепляющейся из них при действии более сильной кислоты; таким образом, мы узнаем, сколько щелочи еще имеется в резерве на случай поступления в кровь новых количеств кислоты. Чем меньше имеется в запасе бикарбонатов, тем значительнее, следовательно, нарушение щелочно-кислотного равновесия, тем больше опасность, что реакция крови не удержится на постоянной высоте. В этом и состоит диагностическое значение определения резервной щелочности по ван Слайку.

Ацидоз наблюдается главным образом при сахарной болезни, нефрите и некоторых состояниях, ведущих за собой нарушение выделения углекислоты (газовый ацидоз). Сюда, повидимому, относятся: расстройство сердечной деятельности, эмфизема, патологические изменения в легочных альвеолах, газовый ацидоз. Ацидоз наблюдается также при кишечных расстройствах детского возраста, вследствие потери щелочей, а также в тех случаях, когда дыхательный центр становится менее чувствительным к изменениям реакции крови, например, при наркозе.

Из заболеваний, протекающих с ацидозом, следует также отметить рахит.

Алкалозом называется состояние, до известной степени противоположное ацидозу: количество бикарбонатов в плазме повышается; напряжение углекислоты в альвеолярном воздухе уменьшается, моча становится щелочной, так как выделяются избыточные бикарбонаты, но не за счет аммиака, который, наоборот, почти исчезает из мочи. Алкалоз развивается при сильной рвоте, вследствие потери организмом большого количества соляной кислоты; клинически алкалоз такого происхождения наблюдается чаще всего при пилороспазме грудных детей. Сдвиг в сторону алкалоза вызывается также при усиленном дыхании (гипервенти-



лянии), произвольном или вследствие кислородного голодания. Такие условия создаются при отравлениях окисью углерода, когда некоторая часть гемоглобина теряет способность воспринимать кислород; во время пребывания на больших высотах, а также при продолжительном погружении в горячую ванну, во время которой усиленное дыхание необходимо для удержания температуры тела на нормальной высоте. Такого происхождения, повидимому, и алкалоз, иногда сопровождающий лихорадочные заболевания, например, при гриппе. Из заболеваний, протекающих с алкалозом, следует отметить тетанию.

2) **Определение кислорода крови в манометрическом аппарате ван Слайка.** Для определения газов крови употребляются точные приборы, в основу которых положен принцип измерения количества полученного газа по его давлению при приведении этого газа к определенному объему.

**Устройство манометрического аппарата.** Манометрический аппарат состоит из экстракционной камеры и закрытого манометра, соединенных между собой (рис. 83). Экстракционная камера представляет собой пипетку в  $50\text{ см}^3$ , суженную у обоих концов (рис. 84). В верхней части она снабжена двухходовым краном *в*, калиброванной воронкой *В* емкостью  $7-8\text{ см}^3$  для введения жидкостей и отводной трубкой для удаления отработанных растворов. Верхняя часть камеры имеет прокалиброванное длинное сужение с небольшим расширением посередине и с двумя отметками *в*  $0,5$  и *в*  $2\text{ см}^3$ . Внизу же у окончания широкой части пипетки имеется отметка *А* в  $50\text{ см}^3$ . Нижняя часть пипетки сужена и соединяется трубкой из плотной вакуумной резины с дважды изогнутой манометрической трубкой высотой  $1\text{ м}$ .

На втором изгибе от манометрической трубки отходят два стеклянных отростка, образуя в этом месте крестообразное соединение. Оба отростка снабжены стеклянными кранами. Верхний кран служит для выпуска жидкости, которая может попасть в манометрическую трубку из экстракционной камеры. Нижний кран *е* сообщает аппарат с уравнительной грушей, соединенной с помощью резинового толстостенного шланга с нижним отростком крестообразного соединения. Наверху манометр с нижним отростком крестообразного соединения. Наверху манометр запирается краном. Манометр имеет внутренний диаметр в  $4\text{ мм}$  и в двух местах ниже и выше шкалы сужен до  $1-1,5\text{ мм}$ , чтобы уменьшать напор, с которым ртуть давит на кран, и ослаблять колебания ртути в манометре при производстве отсчета. На манометре нанесены миллиметровые деления. Позади него в вырез в доске вставлена полоса матового стекла или полоса плотной белой бумаги. Экстракцион-

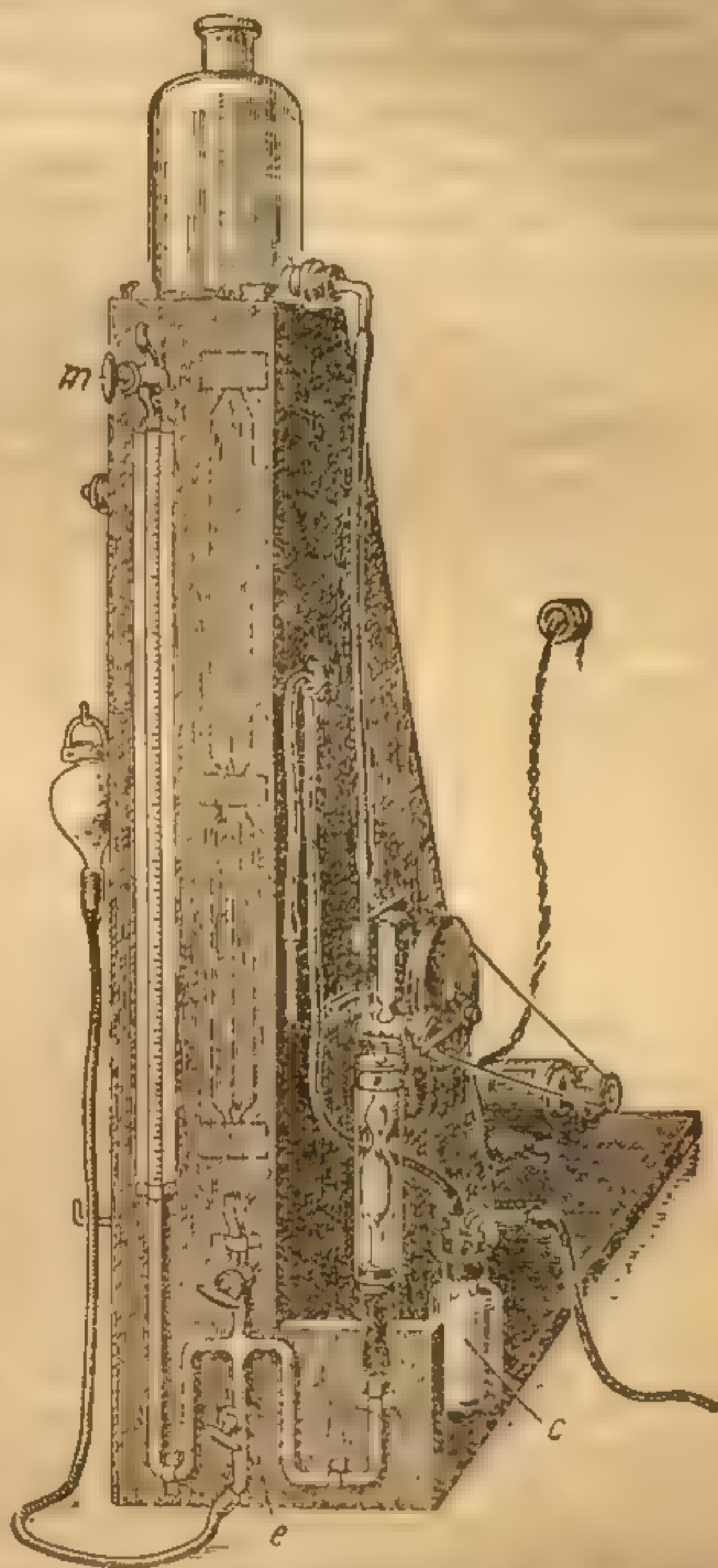


Рис. 83. Манометрический аппарат ван Слайка (общий вид).



ная камера окружена стеклянной муфтой, наполненной водой, в целях предохранения камеры от внезапных колебаний температуры. Муфта снабжена термометром для отсчета температуры, при которой производится анализ (рис. 84).

Для создания белого фона на заднюю стенку водяной муфты наклеивается полоса белого прорезиненного полотна шириной 7—8 см. Весь аппарат наполняется ртутью через уравнительную грушу, и краны наверху манометра и экстракционной камеры запираются. Все части аппарата прочно установлены на вертикальной деревянной доске, прикрепленной к деревянной стойке. Муфта экстракционной камеры с помощью металлического кольца соединяется со специальным аппаратом для встряхивания, укрепленным на вертикальной доске этой же стойки. Он приводится в действие мотором, установленным на горизонтальной доске стойки, или ручным путем. Тут же стоит склянка с для отработанной жидкости, в которую опущена резиновая трубка, соединяющаяся с отводной трубкой экстракционной камеры (можно отработанную жидкость убирать при помощи пипетки прямо из делительной воронки).

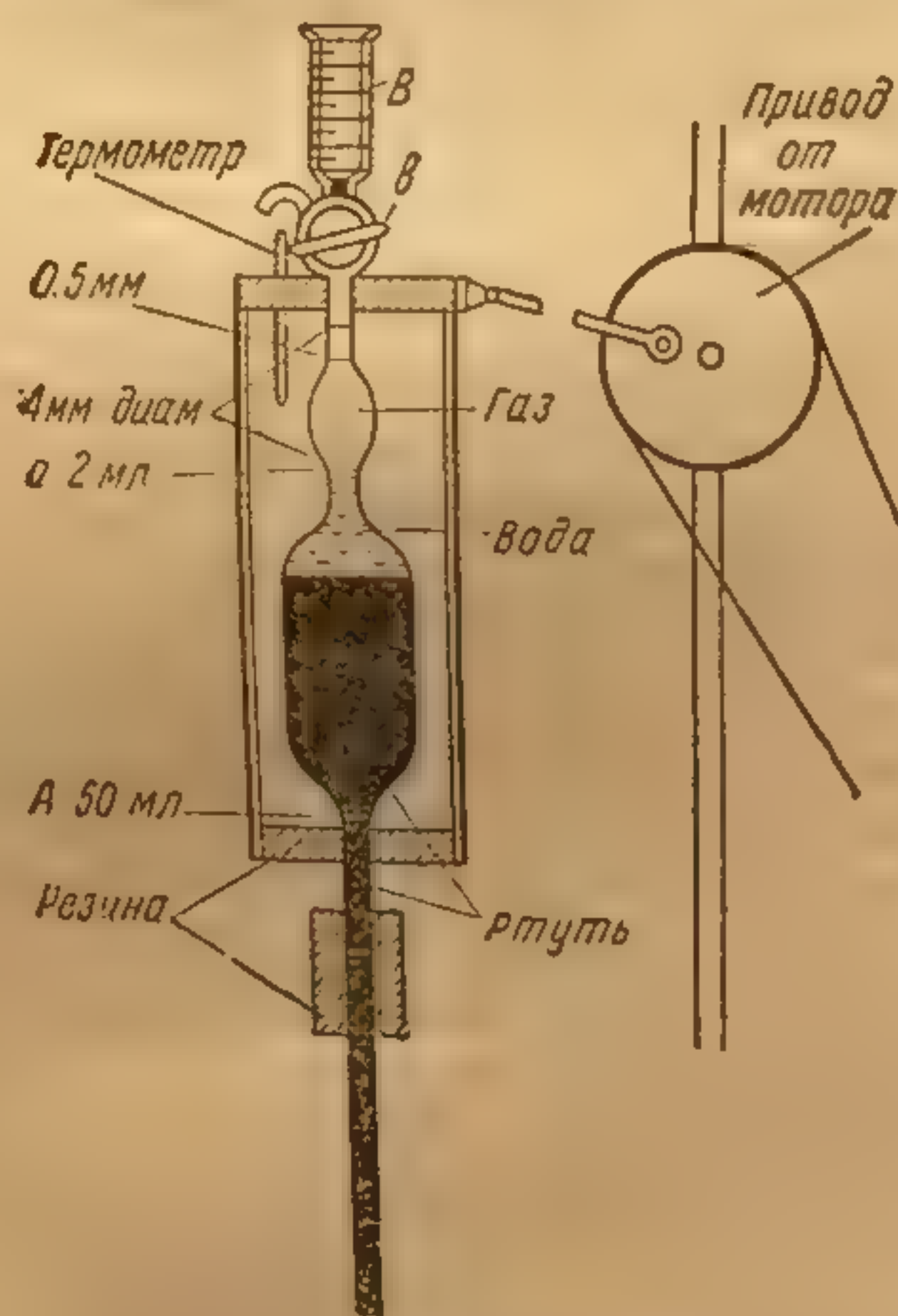


Рис. 84. Экстракционная камера манометрического аппарата ван Слайка.

ставшие к стенкам, не вызывают ошибок в следующих анализах, так как они почти свободны от газов. Время от времени все же желательно наполнить камеру на ночь хромовой смесью или нормальным едким натром, который вводят через кран в; опускание ртути регулируется краном вблизи прикрепления шланга. Когда камера наполнена до отметки А, этот кран запирают. Кран же в оставляют на ночь открытым для выхода газов. Перед работой аппарат после удаления реактивов многократно моют водой и молочной кислотой.

Проба на непроницаемость. Объем воды, равный объему 3,5 см<sup>3</sup>, встряхивают в течение 2 минут в аппарате для удаления растворенных газов. Производят отсчет давления газа на манометре по приведению объема газа к 2 или 0,5 см<sup>3</sup>. Экстрагирование и отсчет снова повторяются. При неизменности температуры первый и второй отсчеты должны быть равны. Проницаемость может быть обнаружена постоянным приростом в отсчете. Причиной неплотности обычно является плохая притертость или смазка кранов.

Смазка должна состоять из одной весовой части невулканизированного каучука, растворяемого при слабом нагревании на водяной бане



целях  
Муфта  
произ-  
муфты  
—8 см.  
краны  
ти ап-  
креп-  
ощью  
встря-  
альной  
одится  
ым на  
руч-  
с для  
о опу-  
цающаяся  
й ка-  
кость  
мо из  
а п-  
ме-  
ана-  
через  
з ка-  
впу-  
й во-  
олоч-  
ется  
иво-  
се-  
е с  
было  
при-  
так  
тно  
ом,  
изин  
ран  
ред  
мо-  
ему  
рас-  
ри-  
ова  
еты  
ым  
ри-  
ро-  
ане

в 5 частях вазелина. Предварительно на кран наносится тонкий слой вазелина, и кран многократно вращается. После этого тем же путем наносится каучуковая смазка. Смазку готовят следующим образом: в фарфоровую чашку отвешивают вазелин, нагревают до появления паров; мелко изрезанный каучук, понемногу помешивая, бросают в вазелин до полного растворения, после чего смазку охлаждают.

**Абсорбция паров воды в манометре.** Для абсорбции паров воды, могущих проникнуть в закрытый конец манометра из экстракционной камеры, через кран сверху манометра изредка вводят 1—2 капли концентрированной серной кислоты и дают им немного стечь вниз. После этого ртуть снова поднимают с помощью груши и удаляют серную кислоту. Концентрированную серную кислоту с успехом может заменить безводный глицерин, который имеет то преимущество, что не разрушает смазки на кране.

**Приготовление свободных от газа реактивов.** Небольшие количества реактивов (до 30 см<sup>3</sup>) могут быть приготовлены путем дву- или трехкратного экстрагирования в камере аппарата при свободном вакуумном пространстве в 20 см<sup>3</sup>. После удаления извлеченного газа через кран в раствор переводится под слой жидкого парафина в специально приспособленную для этой цели хлоркальциевую трубку емкостью 50 см<sup>3</sup>, запирающуюся зажимом и соединенную с помощью короткого отрезка толстостенной резины со стеклянной капиллярной трубкой, снабженной резиновым кольцом (рис. 85). Трубка с резиновым кольцом плотно прижимается ко дну воронки аппарата, и свободный от газа раствор выталкивается поднятием уравнивающей груши в хлоркальциевую трубку под слой масла, являющегося достаточной гарантией против абсорбции воздуха в течение рабочего дня. Освобождение от газов особенно необходимо для щелочей.

**а) Определение кислородной емкости крови.** Врача в клинической практике может интересовать вопрос о кислородной емкости крови, т. е. сколько кислорода может связать кровь при ее полном насыщении, а также степень насыщения кислородом как артериальной, так и венозной крови.

В зависимости от вида анализа, кровь берется при соответствующих условиях. Количество крови, нужное для анализа, от 0,2 до 2 см<sup>3</sup>.

**Принцип.** Оксигемоглобин крови под влиянием железосинеродистого калия (красной кровяной соли) переходит в метгемоглобин; при этом весь кислород оксигемоглобина освобождается, приводится к определенному объему, и его давление в этих условиях измеряется манометром. Отсчет показаний манометра переводится в объемные величины по формуле (см. ниже).

**Реактивы:** 1) 6 г красной кровяной соли и 3 г сапонины, 3 см<sup>3</sup> октилового спирта смешивают с дистиллированной водой при тщательном взбалтывании в литровой колбе; после получения ровной эмульсии доводят до метки; 2) нормальный раствор NaOH.

Кровь в количестве 3—4 см<sup>3</sup> берут из вены в колбочку с оксалатом и хорошо взбалтывают до яркокрасного цвета (оксигемоглобин). Колбочку для крови готовят заранее: ее смачивают 30% раство-

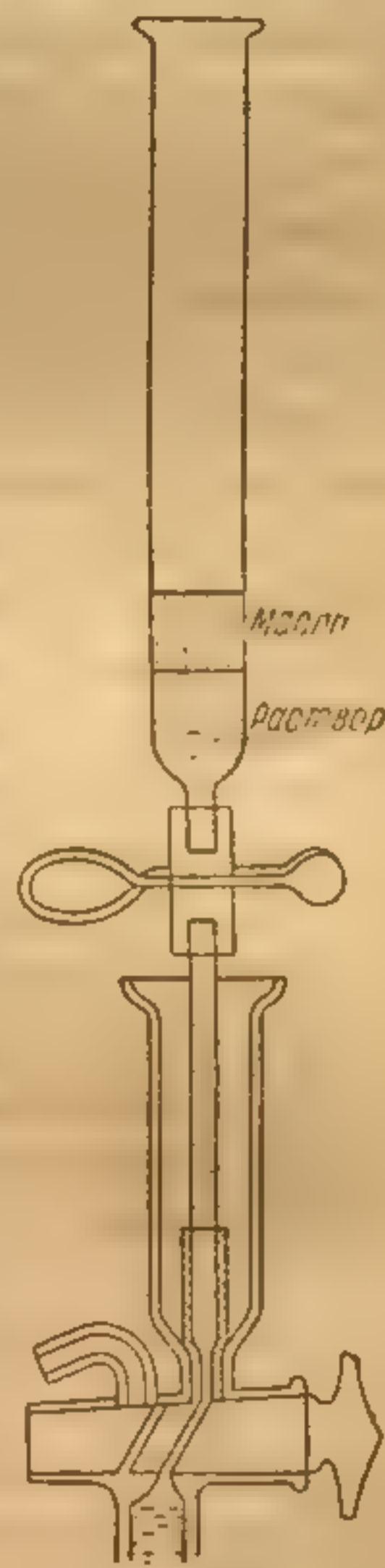


Рис. 85. Приборчик для реактивов, освобожденных от газов.



ром нейтрального ( $\text{pH} = 7,4 \pm 0,2$ ) шавелевокислого калия или натрия и хорошо высушивают.

**Производство анализа.** В градуированную воронку В вливают  $7,5 \text{ см}^3$  раствора (1) и переводят его в экстракционную камеру для тщательной деаэрации, для чего при закрытом верхнем кране опускают ртуть до метки 50 и встряхивают 3 минуты. Затем поднимают ртуть и полученный пузырек воздуха вместе с  $6 \text{ см}^3$  раствора выпускают обратно в воронку, повторяя эту процедуру. В экстракционной камере остается  $1,5 \text{ см}^3$  раствора;  $1 \text{ см}^3$  хорошо перемешанной крови (без пузырей) вводят пипеткой с резиной на конце (рис. 85) под раствор, находящийся в воронке, и осторожно спускают в камеру. Пипетку удаляют и в камеру вводят еще  $1 \text{ см}^3$  раствора (1), который смывает остатки крови в капилляре. Кран запирается каплей ртути, а остаток реактива удаляется из воронки пипеткой. При плотно закрытом кране аппарат с кровью и реактивом со ртутью, спущенной до метки А, хорошо встряхивают в течение 3 минут; при этом следует избегать соприкосновения ртути и раствора красной кровяной соли на большой поверхности, для чего ртуть следует держать на узком месте экстракционной камеры путем опускания груши и закрывания крана е. После этого в воронку осторожно вводят  $1 \text{ см}^3$  свободного от газа раствора  $\text{NaOH}$  (2), из которого  $0,5 \text{ см}^3$  спускают осторожно в аппарат при слегка уменьшенном давлении в камере для поглощения углекислоты, отчасти выделившейся из крови. Оставшийся газ ( $\text{O}_2 + \text{N}_2$ ) приводится к объему  $2 \text{ см}^3$  (исключая случаи с очень низким содержанием  $\text{O}_2$ , когда лучше приводить газ к объему  $0,5 \text{ см}^3$ ), и делается повторный отсчет на манометре ( $P_1$ ). После отсчета  $P_1$  газы полностью выгоняются из камеры и делается второй отсчет ( $P_2$ ) при положении мениска на той же метке для учета давления водяных паров. Разность  $P_1 - P_2$  дает давление, соответствующее общему содержанию кислорода и азота в камере. Путем умножения на соответствующий фактор табл. 37 находят объемное содержание газов. Далее следует вычесть количество азота. Обычно оно равно  $1,2 \text{ об. } \%$  для только что взятой крови; его вычитают и получают содержание кислорода. Количество кислорода зависит от количества гемоглобина ( $1 \text{ г гемоглобина связывает } 1,34 \text{ см}^3 \text{ кислорода}$ ).

Когда желательна максимальная точность, кислород определяется поглощением его раствором гидросульфита, приготовляемым путем растворения  $10 \text{ г}$  гидросульфита натрия в  $50 \text{ см}^3$   $\text{p/2}$  раствора  $\text{KOH}$ . Прибавление к раствору одной капли  $10\%$  хлористого железа усиливает его действие. Этот раствор предварительно деаэрируется в аппарате и втягивается в хлоркальциевую пипетку под слой масла. После поглощения углекислоты и отсчета  $P_1$  в воронку вводится  $1 \text{ см}^3$  раствора гидросульфита; в камеру же он вводится отдельными каплями в количестве  $0,5 \text{ см}^3$  в продолжение 2—3 минут. Весь газ абсорбируется, за исключением небольшого пузырька азота. Растворимость азота в растворе гидросульфита в 4 раза меньше, чем в воде. Следовательно, поглощение кислорода может быть произведено при атмосферном давлении без измеримой реабсорбции. После поглощения кислорода оставшийся газ снова, как и раньше, приводится к объему в 2 или  $0,5 \text{ см}^3$  и делается отсчет  $P_2$ .

Вместо гидросульфита для поглощения кислорода можно пользоваться  $1 \text{ см}^3$  раствора пирогаллола, приготовляемого из  $10 \text{ г}$  пирогалловой кислоты на  $200 \text{ см}^3$  насыщенного раствора  $\text{KOH}$ . Так как коэффициент растворимости газов в таком насыщенном растворе почти нулевой, то нет необходимости его дегазировать. Для предохранения от окисления раствор хранится под парафином в хлоркальциевой трубке. При соприкосновении



с гемоглобином он образует липкий осадок. Поэтому пирогаллол впускается в камеру так, чтобы соприкосновение его с кровью происходило в широкой части камеры. После введения пирогаллола и поглощения кислорода раствор поднимают вверх, чтобы смыть следы концентрированной щелочи со стенок камеры, после чего делают отсчет  $P_3$ . Пирогаллол не так энергичен, чист и удобен, как гидросульфит. Его единственное преимущество — постоянство раствора; раствор же гидросульфита приходится готовить каждый раз.

б) Определение степени насыщения крови кислородом. Это определение отличается от предыдущего только способом взятия крови. Взятие крови как артериальной, так и венозной производится под вазелиновое масло, предварительно хорошо нагретое и для удаления растворенного в нем воздуха остуженное. Брать кровь удобно в цилиндрическую рюмку, предварительно хорошо обработанную оксалатом (см. выше) и до половины наполненную маслом. Кровь из вены, взятую без малейшего застоя, или из артерии, следует спускать сразу под масло. Удобно на иглу надеть тонкую резиновую трубку и, когда кровь пойдет хорошей струей, опустить резинку под масло; кровь опускается на дно сосуда без соприкосновения с воздухом и осторожно для предотвращения свертывания перемешивается под маслом тонкой стеклянной палочкой, смоченной оксалатом и предварительно просушенной.

Для получения крови, соответствующей насыщению кислородом крови артерий, можно брать кровь из пальца после предварительного опускания руки в воду температуры  $40^\circ$  на 10 минут. В этом случае артериолы расширяются, и по ним быстро течет артериальная кровь. Укол нужно делать глубже, стереть первую каплю и затем опустить палец в масло; кровь каплями стекает на дно сосуда. Далее следует поступать, как сказано выше.

Для производства анализа подготовка аппаратуры и реактивов проводится, как для определения кислородной емкости крови, но только кровь без всякого взбалтывания набирается в пипетку из-под масла и очень осторожно спускается в воронку и экстракционную камеру. Анализ проводить, как описано выше, но из венозной крови кислорода получается меньше.

Параллельно с анализом насыщения крови кислородом следует проводить определение кислородной емкости.

Вычисление. Для получения объема кислородной емкости крови и насыщения кислородом крови в объемных процентах следует величину, полученную в миллиметрах ртутного столба, умножить на фактор в табл. 37, соответствующий температуре, при которой производился анализ.

Выведение фактора. Уравнение для вычисления общего содержания газа в растворе из количества газа, выделенного в свободную камеру, по ван Слайку, имеет следующий вид:

$$V_{0^\circ, 760} = P \frac{\alpha \cdot t (1 + 0,000172 t)}{760 \cdot (1 + 0,00367 t)} \cdot \left( 1 + \frac{S \alpha_1}{A - S} \right),$$

где  $V_{0^\circ, 760}$  — объем газа при  $0^\circ$  и 760 мм давления в анализируемой жидкости;  $P$  — давление газа, отсчитанное по манометру;  $\alpha$  — объем, к которому приведен газ;  $A$  и  $S$  — емкость экстракционной камеры и объем раствора в ней;  $\alpha_1$  — оствальдовский коэффициент распределения газа между газообразной и жидкой фазой ( $\alpha_1 = \frac{t}{273} \cdot \alpha$ , где  $\alpha$  — коэффициент



растворимости;  $t$  — температура в градусах Цельсия);  $(1 + 0,000172 t)$  — поправка на влияние температуры на удельный вес ртути;  $i$  — эмпирическая поправка на реабсорбцию части выделенного газа при приведении его к объему  $a$ . По данным ван Слайка, эта поправка для углекислоты, определенная в аппарате емкостью в 50 см<sup>3</sup>, равна 1,017; при  $a = 2$  см<sup>3</sup> — 1,037; при  $a = 0,5$  см<sup>3</sup> — 1,039. Для кислорода и азота реабсорбция совершенно незначительна, и поправка  $i$  равна 1,0. Сократив дробь на  $(1 + 0,000172 t)$ , получим упрощенное уравнение:

$$V_{02, 760} = P \frac{a \cdot i}{760 (1 + 0,00384 t)} \cdot \left(1 + \frac{S a_1}{A - S}\right).$$

Выражение  $\frac{a \cdot i}{760 (1 + 0,00384 t)} \cdot 1 + \frac{S a_1}{A - S}$  и служит основанием для получения фактора, на который надо умножить отсчитанное по манометру давление для вычисления газов крови в объемных процентах.

Таблица 37  
Факторы для вычисления газов крови  
в объемных процентах

Температура	Факторы для кислорода, азота и окиси углерода		
	проба = 2,0 см <sup>3</sup> , $S = 2,0$ » $a = 0,5$ » $i = 1,00$	проба = 1 см <sup>3</sup> $S = 3,5$ см <sup>3</sup>	
		$a = 0,5$ см <sup>3</sup> $i = 1,00$	$a = 2,0$ см <sup>3</sup> $i = 1,00$
15°	0,312	0,0623	0,2493
16°	10	21	85
17°	09	19	78
18°	08	17	68
19°	07	15	59
20°	07	13	50
21°	06	10	41
22°	05	08	32
23°	03	06	23
24°	02	04	14
25°	01	02	06

в) Диагностическое значение. Кислородная емкость насыщенной кислородом крови получается от 15 до 23 см<sup>3</sup> в 100 см<sup>3</sup>. Эта величина зависит от количества гемоглобина в крови, так как 1 г гемоглобина может связать 1,34 см<sup>3</sup> кислорода (этим способом можно проверять гемометры). Процент насыщения венозной крови из вены руки в норме в покое составляет около 85% от насыщения артериальной крови. При сердечной недостаточности, эмфиземе и других расстройствах дыхания этот процент может значительно падать. При тяжелых нарушениях кровообращения и дыхания может падать и процент насыщения артериальной крови, которая в норме бывает насыщена на 96—98%. Понижение насыщения кислородом как венозной, так особенно артериальной крови обуславливает цианоз.



## ОТДЕЛ ВТОРОЙ

# СПИННОМОЗГОВАЯ ЖИДКОСТЬ

Диагностическое значение исследования спинномозговой жидкости, завоевавшее неоспоримое признание в последние 20—25 лет, с еще большей яркостью выявилось в период Отечественной войны. При разнообразных ранениях черепа и позвоночника картина ликвора нередко давала врачу возможность своевременно распознавать осложнения воспалительного характера.

Изменению ликвора при нейрохирургических заболеваниях в советской литературе посвящены многочисленные работы. Большая роль в изучении этого вопроса принадлежит Н. Н. Бурденко и его школе.

Для получения спинномозговой жидкости применяются три способа: поясничный прокол, цистернальный прокол и вентрикулярный прокол (прокол мозговых желудочков). Поясничный прокол является самым старым и долгое время был наиболее распространенным. В настоящее время почти одинаково часто применяется также цистернальный прокол и вентрикулярный.

Ввиду того что даже поясничный прокол надо производить с большой осторожностью и больной после него должен оставаться в постели, добывать спинномозговую жидкость в стенах лаборатории не приходится.

### ОБЩИЕ СВОЙСТВА

1) **Цвет.** Нормальная спинномозговая жидкость бесцветна; при стоянии она не свертывается. При патологических условиях жидкость нередко представляется окрашенной, причем чаще всего наблюдается так называемая ксантохромия, т. е. окраска в желтоватый цвет различной интенсивности и различных оттенков: бледножелтый, зеленовато-желтый, розовато-желтый, ясножелтый.

Желтая окраска зависит от присутствия дериватов кровяного пигмента (билирубина и биливердина) и является признаком геморрагии в центральной нервной системе. Она может также служить указанием на застойные явления в центральной нервной системе. Изредка она наблюдается при желтухе. При интратекальном введении пенициллина может наблюдаться желтая окраска лекарственного происхождения.

Когда окраска очень бледна, она может быть обнаружена только при рассматривании пробирки с жидкостью на белом фоне (пробирка должна быть из бесцветного стекла) и при сравнении с контрольной пробиркой, в которую налита вода. В некоторых случаях жидкость бывает окрашена кровью в красноватый цвет. Примесь крови патологического характера важно уметь отличать от случайной (вызванной травмой во время прокола), для чего достаточно центрифугировать жидкость



вскоре (через  $1\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{2}$  часа) после взятия: если примесь крови была случайной, то жидкость после центрифугирования бесцветна.

При острой травме (перелом основания черепа), связанной с обильным кровотечением, жидкость, взятая вскоре после ранения, после центрифугирования также бесцветна.

2) **Прозрачность.** Нормальная спинномозговая жидкость прозрачна. При некоторых болезнях она становится мутной. Степень помутнения бывает весьма различна от легкой опалесценции до резко выраженной мути. Причина мути — увеличенное содержание клеточных элементов, фибриногена или присутствие микроорганизмов. Легкая муть нередко вызывается небольшой примесью эритроцитов, которая придает спинномозговой жидкости слегка сероватый оттенок.

3) **Удельный вес.** Удельный вес в норме 1 006—1 008; в патологических условиях он резко повышается. Определение проще всего производится ареометром малого размера.

## ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

1) **Счет форменных элементов.** К счету форменных элементов желательно приступать возможно скорее после взятия жидкости, так как клетки вне организма иногда быстро разрушаются. Счет производится аналогично счету клеток крови в счетной камере. В ликворе клеток нередко очень мало, поэтому для их счета желательно пользоваться специальными камерами большей емкости, чем камеры для счета кровяных клеток. По этой же причине жидкость не разводят, а только прибавляют к ней  $\frac{1}{10}$  объема подкрашенной уксусной кислоты для растворения эритроцитов, которые в ней могут содержаться, и для подкрашивания клеточных ядер. Наиболее употребительны из предложенных различных растворов уксусной кислоты следующие:

а) Уксусная кислота 100% или 300% . . . . .	50 мл
Метилвиолет . . . . .	0,1 г
б) Уксусная кислота 50% . . . . .	50 мл
Сапонин . . . . .	0,1 г
Метилвиолет . . . . .	0,1 г
в) Ледяная уксусная кислота . . . . .	30,0
Ac. carbolic liquefactum . . . . .	2,0
Спиртовой раствор фуксина (1:10) . . . . .	2,0
Дистиллированная вода . . . . .	до 100,0

Последний раствор красит медленнее; прибавив его, нужно немного подождать, но он дает более отчетливую картину, чем предыдущие. Клетки сохраняются в нем без изменения несколько часов. Раствор безгранично стоек.

**Специальные камеры.** Камера Фукс-Розенталя: площадь сетки этой камеры  $16\text{ мм}^2$  ( $4 \times 4$ ), глубина камеры 0,2 мм, емкость  $16 \times 0,2 = 3,2\text{ мм}^3$ . Камера русского гематолога Глаубермана<sup>1</sup>: площадь сетки  $25\text{ мм}^2$  ( $5 \times 5$ ), глубина камеры 0,2 мм, емкость  $25 \times 0,2 = 5\text{ мм}^3$ . Камера сконструирована по типу камеры Бюркера, т. е. несет 2 сетки на одном стекле.

Подсчет сводится к следующему. Наливают на часовое стекло или в другой плоский сосуд немного разводящей жидкости; пробирку с ликвором осторожно катают между ладонями (около 2 минут) для равномерного смешения ликвора без образования пены; небольшую часть его отливают в пробирку или на часовое стекло. Затем в смеситель для со-

<sup>1</sup> Глауберман, Клиническая гематология, 1917, стр. 58



считывания лейкоцитов набирают разводящего раствора до метки 1 и, обтерев кончик смесителя, набирают спинномозговой жидкости до метки 11, после чего смешивают встряхиванием и наполняют камеру.

Взамен смесителя можно пользоваться пастеровской пипеткой: отмерить ею на часовое стекло 10 капель спинномозговой жидкости и той же пипеткой прилить каплю красящего раствора, смешать и наполнить камеру. Способ этот прост, удобен, и при нем затрачивается меньше спинномозговой жидкости, так как ее не приходится отливать.

Так как обычно форменных элементов мало, то, пользуясь камерой Фукс-Розенталя, сосчитывают всю камеру или, еще лучше, 2—3 камеры. Чтобы вычислить число клеток в 1 мм<sup>3</sup>, число  $a$ , полученное при сосчитывании одной камеры, нужно разделить на 3,2 (емкость камеры) и на  $10/11$  (степень разведения). Таким образом,  $x$  (число клеток в 1 мм<sup>3</sup>) выражается формулой:

$$x = \frac{a \cdot 11}{3,2 \cdot 10}, \text{ т. е. приблизительно равно } \frac{a}{3}.$$

При сосчитывании одной сетки Глаубермана:

$$x = \frac{a \cdot 11}{5 \cdot 10}, \text{ т. е. приблизительно равно } \frac{a}{5}.$$

При сосчитывании обеих сеток  $x = \frac{a}{10}$ .

За неимением камеры Фукс-Розенталя или Глаубермана можно пользоваться камерой Горяева, Бюркера или Тюрка (см. «Кровь»), но в таком случае необходимо просчитать для проверки 3—4 камеры, так как емкость этих камер значительно меньше (0,9 мм<sup>3</sup>). Для вычисления клеток, содержащихся в 1 мм<sup>3</sup>, число  $a$  в этих случаях нужно умножить на 1,2. Множитель 1,2 получается из следующей формулы:

$$x = \frac{a \cdot 11}{0,9 \cdot 10},$$

где 0,9 — емкость камеры,  $10/11$  — степень разведения.

В литературе нередко число клеток приводится в виде дроби со знаменателем 3, например,  $100/3$ , если в камере Фукс-Розенталя сосчитано 100 клеток.

Такой способ выражения не имеет преимуществ, так как счет далеко не всегда производится в камере Фукс-Розенталя. Следует обозначать число клеток в мм<sup>3</sup>. Например:  $\frac{100}{3} = 33$  клетки в 1 мм<sup>3</sup>.

Если спинномозговая жидкость содержит примесь крови случайного характера, то приходится считаться с тем, что вместе с эритроцитами в нее попадают из крови и лейкоциты. В таких случаях оценивать результат подсчета нужно с большой осторожностью.

Содержание клеток принято называть цитозом: нормоцитоз — нормальное их количество, плеоцитоз — увеличенное количество.

Число клеточных элементов при пункции в различных отделах неодинаково.

На основании многочисленных наблюдений в Нейрохирургическом институте им. Бурденко для цитоза приняты следующие нормы:

Пункция	Цитоз в 1 мм <sup>3</sup>
Вентрикулярная . . . . .	0 — $3/3 = 1$
Цистернальная . . . . .	0 — $2/3 = 0-1$
Люмбальная . . . . .	0 — $8/3 = 2-3$



В громадном большинстве случаев число клеток у взрослого не превышает  $4/3$ ; у детей оно выше: в возрасте до 1 года оно может достигать до  $20/3-30/3$ , у детей 1—4 лет — до  $10/3-20/3$ <sup>1</sup>. При заболеваниях центральной нервной системы, главным образом мозговых оболочек, а также при травмах число клеток увеличивается в различной степени: при сифилисе центральной нервной системы увеличение небольшое, при туберкулезном менингите — большей частью умеренное, при гнойных менингитах (менингококковом, стрептококковом и др.) — очень большое, нередко даже не поддающееся подсчету; при травмах — увеличение очень вариабельное.

2) Дифференцирование клеточных элементов. Дифференцирование клеток при некотором навыке можно производить в счетной камере одновременно с подсчетом. В ряде случаев все же приходится прибегать к исследованию фиксированных окрашенных препаратов, на которых попутно обнаруживается и содержащаяся в спинномозговой жидкости микрофлора.

Приготовление препаратов. Обычный способ. Жидкость центрифугируют, сливают с осадка, осадок переносят пипеткой на предметное стекло и очень немного размазывают (препарат должен быть небольшой — не больше  $1\text{ см}^2$ ). Препарат подсушивают, фиксируют метиловым или этиловым алкоголем и окрашивают азур-эозином (см. «Кровь», глава I). Этот способ редко дает хорошие результаты.

Видоизменение обычного способа по Возной. Жидкость центрифугируют, сливают с осадка, осадок хорошо смешивают встряхиванием и сливают (без помощи пипетки) на предметное стекло, промытое спиртом и обожженное. Каплю осадка покачиванием распределяют более или менее тонким слоем. Препарату дают высохнуть, покрыв его неплотно стеклянным колпаком, на что требуется около суток. Затем его фиксируют обычным для мазков крови способом и окрашивают сначала слабым раствором азур-эозина (раствор, применяемый для мазков крови, разводят в 5 раз) в течение часа, потом более крепким обычным в течение нескольких минут под контролем микроскопа. Это видоизменение способа дает лучшие результаты.

Способ Форстера.  $5\text{ см}^3$  спинномозговой жидкости центрифугируют, жидкость сливают, к осадку прибавляют каплю кровяной сыворотки (человека или животного), осадок смешивают капиллярной пипеткой, переносят на предметное стекло и слегка размазывают. Затем высушивают на воздухе без нагревания, фиксируют метиловым алкоголем и окрашивают метилгрюн-пиронином<sup>2</sup> или азур-эозином. Благодаря прибавлению сыворотки морфология клеток видна отчетливее.

Суправитальная окраска. Каплю отцентрифугированного осадка смешивают на предметном стекле с каплей краски метилгрюни-пиронина и покрывают покровным стеклом<sup>2</sup>. Чтобы препарат сохранился в течение нескольких часов, его обводят воском. Под микроскопом ядра синие или фиолетовые, протоплазма розовая.

Клеточные элементы. В норме в спинномозговой жидкости содержатся только малые лимфоциты. При патологических условиях могут встречаться все виды лейкоцитов периферической крови. Кроме того, иногда встречаются: 1. Арахноэктодотелиальные клетки — круглые или полигональные клетки разных размеров, богатые протоплазмой, с небольшим

<sup>1</sup> Здесь приведено обозначение цифр цитоза в виде дроби, как это было до сих пор принято в советской печати.

<sup>2</sup> Состав краски: метилгрюн — 0,15, пиронин — 0,25, алкоголь 96° — 2,5  $\text{см}^3$ , глицерин — 20  $\text{см}^3$ , 0,5% раствор карболовой кислоты — 100  $\text{см}^3$ .

круглым  
ками плоск  
и при пор  
с одним к  
чения — э  
билирубин  
смешая я  
ются в сп  
нервную с  
жениях м  
фаги, зап  
так как д  
вый цвет.  
ткани. 4.  
при злока  
Они пред  
встречают  
группами.  
секретов

Соби  
блюдением  
кость в. о  
лезный м  
Наиб  
и туберку  
филококк  
Имею  
соответст  
воспалите

1) Ту  
чек чаще  
Спинном  
и в доста  
поражени  
рые долж  
хивания.  
на 18—2  
избегая  
нежная  
туберкул  
тонка, чт  
окрасить  
что силь  
вылить с  
держа ег  
касаясь  
ксируют  
по Циль  
приходит  
тельных  
ставить



круглым ядром. Иногда они до некоторой степени сходны с клетками плоского орогового эпителия. Такие клетки могут встречаться и при нормальном цитозе. 2. Макрофаги — клетки различной величины, с одним круглым или овальным ядром, содержащие различные включения — эритроциты, нейтрофилы (цельные или обломки), кристаллы билирубина и т. д., а также вакуоли, которые могут занимать все тело, смещая ядро к периферии (перстневидные клетки). Макрофаги появляются в спинномозговой жидкости после кровоизлияний в центральную нервную систему, при распадающихся опухолях, воспалительных поражениях мозговых оболочек и т. д. 3. Зернистые шары — те же макрофаги, заполненные жировыми капельками. Последние легко распознаются, так как двояко преломляют свет и окрашиваются суданом III в оранжевый цвет. Появляются при процессах, связанных с распадом мозговой ткани. 4. Опухолевые клетки, которые в редких случаях удается найти при злокачественных новообразованиях в центральной нервной системе. Они представляют большие трудности для распознавания, особенно если встречаются одиночками. Легко распознать их, если они расположены группами. Особенности морфологии этих клеток — см. «Исследование секретов и экскретов для диагностики злокачественных новообразований».

## БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Собирание спинномозговой жидкости необходимо производить с соблюдением строгой асептики. Лучше всего собирать спинномозговую жидкость в отдельную стерильную пробирку, а при подозрении на туберкулезный менингит — в две стерильные пробирки.

Наиболее частыми возбудителями менингита являются менингококк и туберкулезная палочка; значительно реже — пневмококк, стрепто- и стафилококк и другие микроорганизмы.

Имеются указания, что при различных инфекционных заболеваниях соответствующие возбудители могут содержаться в ликворе, не вызывая воспалительных явлений.

1) **Туберкулезная палочка.** Для обнаружения туберкулезных палочек чаще всего применяют только бактериоскопическое исследование. Спинномозговая жидкость должна быть собрана в стерильной пробирке и в достаточном количестве (около 10—12 см<sup>3</sup>). Еще лучше иметь в распоряжении для бактериоскопического исследования две пробирки, которые должны быть перенесены в лабораторию по возможности без встряхивания. Пробирку с доставленной спинномозговой жидкостью ставят на 18—24 часа в вертикальном положении на ледник, по возможности избегая встряхивания жидкости. За это время в жидкости образуется нежная сеточка фибрина, которая во время свертывания захватывает туберкулезные палочки и клеточные элементы. Сеточка иногда настолько тонка, что ее легко не заметить; необходимо осторожно выловить ее и окрасить. Так как от прикосновения проволоочной петлей она съезживается, что сильно затрудняет последующее микроскопирование, то лучше просто вылить содержимое пробирки вместе с сеточкой на предметное стекло, держа его над чашкой Петри. Жидкость отсасывают пипеткой, не прикасаясь к сеточке, после чего препарат дают высохнуть. Затем его фиксируют на пламени или, лучше, метиловым алкоголем и окрашивают по Циль-Нильсену. Препарат нужно исследовать очень тщательно; иногда приходится затрачивать полчаса — 1 час для нахождения бацилл. В подозрительных случаях желательно прибегать к методу обогащения, а именно ставить на ледник не одну пробирку, а две, и на следующее утро одну



обработать, как только что описано, другую же поставить в термостат на 3—4 дня, после чего выловить сеточку и окрасить. Описанным методом удастся обнаружить туберкулезные палочки почти во всех случаях.

Если жидкость доставляется с плавающим в ней свертком фибрина, то ее центрифугируют 10 минут, сливают с осадка, осевший фибриновый сверточек переносят проволоочной петлей в каплю физиологического раствора хлористого натрия, положенную на тщательно вымытое спиртом стекло. Затем сверточек растирают петлей при легком нагревании до тех пор, пока он не присохнет к стеклу. Размеры препарата должны быть как можно меньше. Препарат высушивают, фиксируют и красят обычным способом. Если в фибриновой сеточке палочек не находят или если она при стоянии не образуется, то жидкость центрифугируют не меньше 30 минут на быстроходной центрифуге и исследуют осадок, как обычно.

При отрицательном результате описанных методов прибегают к способу флотации (всплывания). В пробирку наливают 5—7 см<sup>3</sup> ликвора (если такого количества жидкости в распоряжении не имеется, то берут меньшее количество и доливают водой до этого объема), приливают равный или несколько больший объем ксилола, сильно встряхивают в течение 15 минут и оставляют стоять на 30 минут, чтобы слой ксилола всплыл. Затем отстоявшийся верхний слой переносят пипеткой капля за каплей на предметное стекло и обрабатывают препарат, как при исследовании мокроты (см. «Мокрота», стр. 293).

Посев и биологическая проба — см. отдел X.

2) **Менингококк** (рис. 86). Для обнаружения менингококков применяют исследование бактериоскопических препаратов и посев на питательные среды (см. отдел X). Добытая жидкость, предохраненная от охлаждения, должна быть немедленно отслана в лабораторию, так как в противном случае менингококки могут погибнуть. В лаборатории тотчас после доставки жидкости делают посев на питательные среды и непосредственно после этого производят бактериоскопическое исследование.

Если жидкость мутна, то для бактериоскопического исследования готовят мазки без предварительного центрифугирования; если она прозрачна, ее предварительно центрифугируют и готовят мазки из осадка. Скрашивают мазки по Граму и метиленовой синькой. Менингококки по Граму обесцвечиваются и окрашиваются в дополнительный цвет.

Менингококки находят в мазках сравнительно легко; по морфологии они очень похожи на гонококки (см. «Возбудители венерических заболеваний»). Очень часто они лежат внутриклеточно, но такое расположение не является необходимым для диагноза. Количество их очень различно: их может быть много или очень мало, наконец, иногда их найти совсем не удастся. Так как при других формах гнойного менингита микроорганизмы содержатся в большом количестве, то отсутствие микроорганизмов в гнойной спинномозговой жидкости говорит за эпидемический цереброспинальный менингит.

3) **Другие возбудители гнойного менингита.** Другие возбудители гнойного менингита (пневмококк, стафилококк и т. д.) обнаруживаются аналогичным образом, т. е. путем бактериоскопического исследования окрашенных мазков и посевов на соответствующие питательные среды (см. отдел X).

## ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

1) **Общее количество белка.** Общее количество белка обычно определяется по способу Брандберг-Робертс-Стольников. Определение производится так же, как при исследовании мочи (стр. 312), т. е. с

разведения  
при исслед  
ветствует

Опред  
количество  
хирургиче  
тивопоказ  
меньше. Г  
нужного  
служить  
вая реакци

При  
при реакци  
как на ре  
способом  
0,1—0,2

Степ  
крестами  
боре нуж  
водят в  
разведен  
разведен  
ликвора  
Гелера ч

Дру  
ством ж  
торой пр

Сод  
цистерна  
в вентри  
ной — от  
оно выш  
летя от

Зна  
меньшу  
чаемся  
фракции  
фалия).  
состоян

2)  
ляют  
возмож  
были пр  
них та  
линово

а)  
антах:  
фикаци  
стране  
количе  
Количе

1  
и.м. Н.



разведенным ликвором проделывают реакцию Гелера, принимая, как и при исследовании мочи, что появление кольца через 2—3 минуты соответствует содержанию белка 0,033‰ (33 мг в 1 л).

Определение белка обычным способом требует довольно большого количества спинномозговой жидкости. Между тем при некоторых нейрохирургических заболеваниях взятие большого количества жидкости противопоказано и приходится ограничиваться взятием 0,5—1 см<sup>3</sup> и даже меньше. Поэтому необходимо иметь какой-нибудь ориентир для выбора нужного разведения. Таким ориентиром, по наблюдениям Возной, может служить реакция Панди, которая обычно рассматривается как глобулиновая реакция, но в действительности отражает общее содержание белка.

При некотором навыке по интенсивности помутнения, получаемого при реакции Панди, можно определить нужную степень разведения. Так как на реакцию Панди затрачивается только одна капля ликвора, то этим способом достигается значительная экономия материала (можно обойтись 0,1—0,2 см<sup>3</sup>); к тому же он требует меньшего времени.

Степень помутнения, получаемую при реакции Панди, обозначают крестами ( $\pm$ ,  $+$ ,  $++$ ,  $+++$ ) и, по предложению Возной, при выборе нужного разведения для определения белка ликвор, давший  $\pm$ , разводят в 2—3 раза, давший  $+$  в 5—8 раз и т. д. Если приготовленное разведение оказывается неподходящим и приходится делать дальнейшие разведения, то результат нужно уточнить, приготовив из неразведенного ликвора сразу то конечное разведение, которое дало положительную пробу Гелера через 2—3 минуты. Описание реакции Панди см. ниже.

Другой способ, дающий возможность ограничиться малым количеством жидкости, состоит в использовании содержимого пробирки, в которой производилась реакция Нонне-Апельта (см. ниже).

Содержание белка в норме в жидкости, полученной при поясничном, цистернальном и вентрикулярном проколе, не одинаково. У взрослых оно в вентрикулярной жидкости колеблется от 12 до 20 мг‰, в цистернальной — от 10 до 22 мг‰, в люмбальной — от 22 до 33 мг‰<sup>1</sup>. У детей оно выше; в первые месяцы жизни оно в люмбальной жидкости колеблется от 40 до 80 мг‰.

Значительно большую часть белковых тел составляют альбумины и меньшую — глобулины. При патологических условиях мы часто встречаемся с повышенным содержанием белка (обычно за счет глобулиновой фракции); в отдельных случаях оно может быть и уменьшено (гидроцефалия). Увеличение глобулинов, наблюдаемое при ряде патологических состояний, приобрело большое значение.

2) Глобулиновые реакции. Приводимые ниже реакции не представляют точного количественного определения глобулинов, а дают лишь возможность приблизительной оценки их количества. Некоторые из них были предложены как специфические для сифилиса, однако ни одна из них таковой считаться не может и указывает только на увеличение глобулиновой фракции.

а) Реакция Нонне-Апельта (фаза I) известна в двух вариантах: в виде оригинальной прописи (появление мути) и в виде ее модификации (образование кольца). Последняя модификация наиболее распространена. Сущность обеих модификаций — осаждение глобулинов равным количеством насыщенного раствора сернокислого аммония  $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ . Количество глобулинов оценивается по появляющейся мути или осадку.

<sup>1</sup> Здесь приведены нормы, принятые в Нейрохирургическом институте им. Н. Н. Бурденко.



Приготовление раствора. 85 г химически чистого нейтрального сернокислого аммония всыпают в литровую эрленмейеровскую колбу. В другой, меньшей, колбе нагревают 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды до 95°. Нагретую воду вливают в литровую колбу с сернокислым аммонием и взбалтывают до полного его растворения. Раствор оставляют на несколько дней при комнатной температуре, после чего фильтрованием освобождают его от избытка сернокислого аммония. Раствор должен быть нейтральной реакции (проба на лакмусовую бумажку); если же при стоянии реакция становится кислой, то его осторожно подщелачивают крепким раствором аммиака, прибавляя его по каплям.

Ход реакции. 1) Оригинальная пропись. К определенному количеству ликвора (0,25—0,5—1 см<sup>3</sup>) в маленькой пробирке прибавляют равное количество реактива, встряхивают пробирку и читают результат через 3 минуты. Если жидкость остается прозрачной — результат отрицательный. В положительных случаях наступает помутнение различной степени — от едва заметной опалесценции до ясной мути. Результат отмечают, как: 1) слабую опалесценцию (+), 2) ясную опалесценцию (++) , среднее помутнение (+++) и сильную муть (+++).

При производстве реакции необходимо: 1) пользоваться всегда одними и теми же пробирками; 2) точно соблюдать количественные соотношения, отмеривая ликвор и реактив мерительной пипеткой на 1 см<sup>3</sup> с делениями на 0,01 см<sup>3</sup>; 3) рассматривать ее на черном фоне, сравнивая с пробиркой, в которую налита вода; 4) читать результат всегда через один и тот же промежуток времени — через 3 минуты.

2) Модификация с образованием кольца. В пробирку наливают 0,25—0,5—1 см<sup>3</sup> насыщенного раствора сернокислого аммония и осторожно наслаивают на него равный объем ликвора. В положительных случаях на месте соприкосновения получается беловатое кольцо. Результат читается через 3 минуты. Отметив кольцо, пробирку взбалтывают и рассматривают на степень образования мути, как при оригинальной прописи. Таким образом, эта модификация делает ненужной постановку оригинальной реакции.

Если желательно использовать эту пробу для количественного определения белка, то поступают следующим образом. В пробирку, в которую было налито 0,25 см<sup>3</sup> ликвора и 0,25 см<sup>3</sup> реактива (точно отмеренные), приливают 0,75 см<sup>3</sup> физиологического раствора. Получается разведение ликвора 1:5, которое соответствует содержанию 16 мг% белка. Его можно применять как исходное. Можно также приливать не 0,75 см<sup>3</sup> физиологического раствора, а 0,25 или 0,5; получаемые разведения 1:3, 1:4.

б) Реакция Панди. Выше было упомянуто, что реакция Панди не представляет чисто глобулиновой реакции, а является пограничной, зависящей в значительной степени от общего содержания белка; тем не менее ее принято описывать в числе глобулиновых реакций.

Приготовление реактива. 80—100 г жидкой карболовой кислоты (*Ac. carbolicum liquefactum*) сильно взбалтывают с 1 л дистиллированной воды, после чего раствор оставляют на несколько часов в термостате, а потом в течение нескольких дней при комнатной температуре. На дне сосуда собирается маслянистый осадок, а над ним — прозрачная жидкость; последнюю осторожно отсасывают и применяют в качестве реактива.

Ход реакции. На часовое стекло или на простое предметное стекло, помещенное на черную бумагу, наливают немного (1—0,5 см<sup>3</sup>) реактива и тотчас же сбоку опускают 1 каплю ликвора; в положительных случаях появляется нитевидная муть по контурам капли или помутнение капли. Ликвор необходимо приливать тотчас же, так как при стоянии





Рис. 86. Менингококки в ликворе. Расположение преимущественно внутриклеточное. Окраска метиленовой синькой.

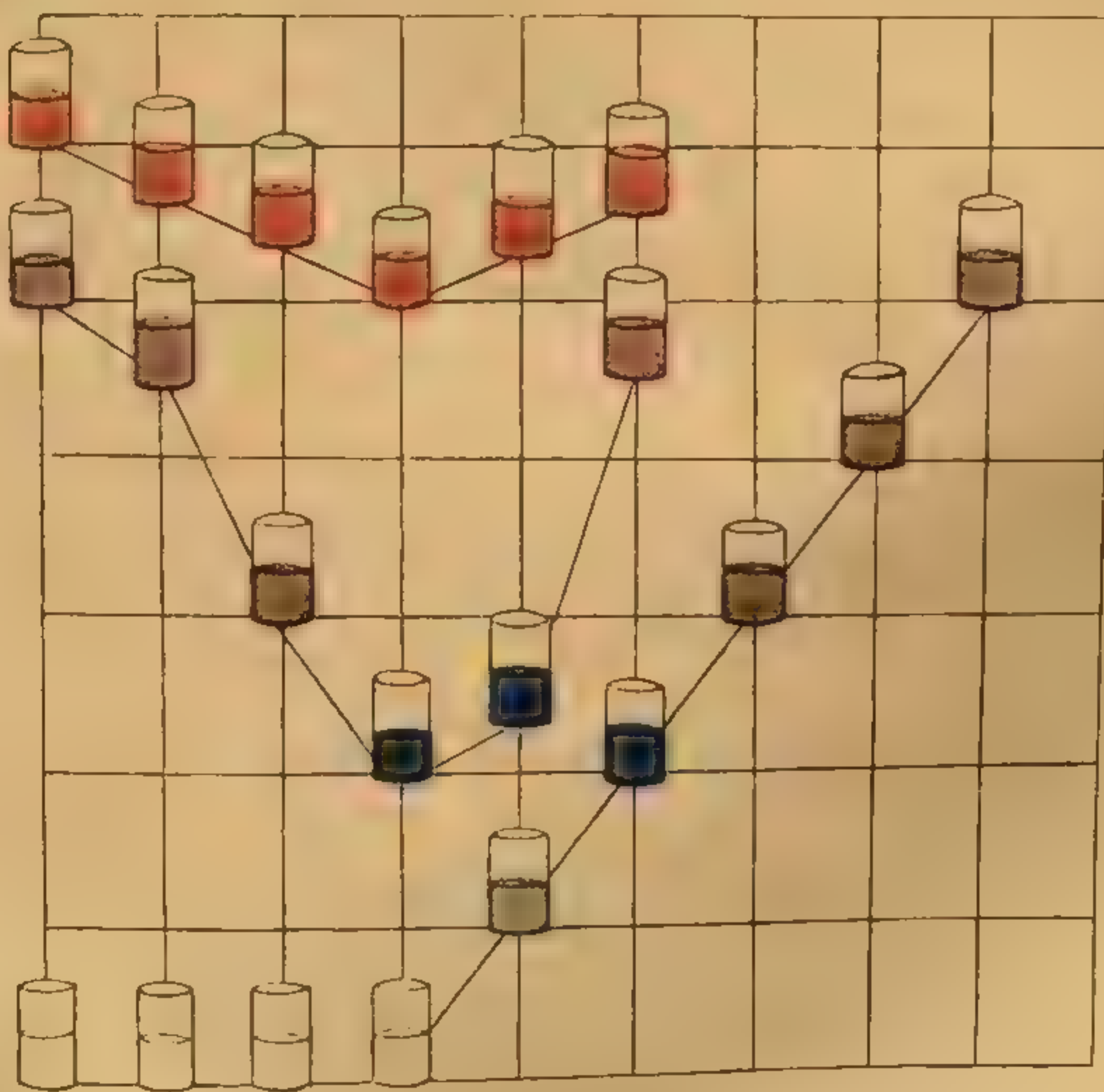


Рис. 87. Реакция Ланге. Верхние две кривые показывают изменение цвета жидкости при сифилисе центральной нервной системы и при сухотке спинного мозга, нижняя — при прогрессивном параличе.



на воздухе реакция  
зультат говорит за  
в) Сулемовая  
линов сулемой. В ка  
К 0,7 см<sup>3</sup> ликвора, на  
Пробирку встряхивают  
как предыдущую. За  
реакции Ионне-Апель  
вают их между себе

На сулемовую ре  
содержание глобулин  
реакции. При уменьш  
яние отпадает.

3) Триптофанова  
дениям ряда авторов.

Реактивы: 1) 2  
лин разводят в 20 ра  
воды); 2) водный раст  
товят в день постанов  
трированная соляная

Постановка  
мерительный цилиндр  
центрированной солян  
сметь слегка встряхи  
рожно наклоняют

При положитель  
2—3 мл. тут появляет  
исчезает. При отрица  
либо имеет коричнева

Положительный р  
нигите в отличие от  
гнойного ликвора реа

4) Реакция Леви  
завания туберкулезн  
бирки наливают по 2  
фосфорной кислот  
ляют при комнатной  
осадков.

В норме в обеих  
менингитах в пробир  
емистый осадок, при  
При туберкулезном м  
обратное: объем осад  
в пробирке с сульфос

5) Определение  
Иенсена (см. «Исслед  
около 60 мг%); как п  
острых и подострых  
беркулезном менинг  
определяющихся кол  
является редкостью.  
сахар нередко совер

1 Флачик С. И.,



на воздухе реактив покрывается тоненькой пленкой. Отрицательный результат говорит за отсутствие увеличения белка.

в) Сулемовая реакция представляет собой осаждение глобулинов сулемой. В качестве реактива применяют раствор сулемы 1:1 000. К 0,7 см<sup>3</sup> ликвора, налитого в пробирку, приливают 0,3 см<sup>3</sup> реактива. Пробирку встряхивают и читают результат. Оценивают реакцию так же, как предыдущую. Здесь надо соблюдать все те же моменты, что и при реакции Нонне-Апельта. Обе реакции производят одновременно и сравнивают их между собой. Обычно сулемовая реакция выражена слабее.

На сулемовую реакцию, как и на реакцию Панди, влияет не только содержание глобулинов, но и альбуминов. Альбумины тормозят появление реакции. При уменьшении концентрации альбуминов это тормозящее влияние отпадает.

3) Триптофановая реакция при туберкулезном менингите, по наблюдениям ряда авторов, имеет диагностическое значение.

Реактивы: 1) 2% водный раствор формалина (продажный формалин разводят в 20 раз: 1 часть формалина + 19 частей дистиллированной воды); 2) водный раствор азотистокислого натрия (NaNO<sub>2</sub>) — 0,06%; его готовят в день постановки реакции из основного 0,6% раствора; 3) концентрированная соляная кислота.

Постановка реакции. В широкую пробирку или небольшой мерительный цилиндр наливают 3 см<sup>3</sup> ликвора, прибавляют 15 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты (3) и 2—3 капли раствора формалина (1); смесь слегка встряхивают и дают ей постоять 5 минут, после чего осторожно наслаивают 2 см<sup>3</sup> раствора азотистокислого натрия (2).

При положительной реакции на границе между жидкостями через 2—3 минуты появляется нежное фиолетовое кольцо, которое при стоянии исчезает. При отрицательной реакции кольцо либо вовсе не появляется, либо имеет коричневатый цвет<sup>1</sup>.

Положительный результат часто наблюдается при туберкулезном менингите в отличие от менингитов другой этиологии. Для исследования гноя ликвора реакция непригодна.

4) Реакция Левинсона, как и предыдущая, предложена для распознавания туберкулезного менингита. В 2 маленькие градуированные пробирки наливают по 2 см<sup>3</sup> ликвора; к одной приливают 1 см<sup>3</sup> 3% сульфосалициловой кислоты, к другой — 1 см<sup>3</sup> 1% раствора сулемы. Оставляют при комнатной температуре на 24 часа, после чего измеряют объем осадков.

В норме в обеих пробирках — небольшой осадок. При всех гнойных менингитах в пробирке с сульфосалициловой кислотой получается обильный осадок, примерно в 3 раза больший, чем в пробирке с сулемой. При туберкулезном менингите (изредка и в других случаях) наблюдается обратное: объем осадка в пробирке с сулемой в 3 раза больше осадка в пробирке с сульфосалициловой кислотой.

5) Определение сахара. Сахар определяется по способу Хагедорн-Иенсена (см. «Исследование крови»). Содержание сахара в среднем равно около 60 мг%; как правило, оно составляет 40—70% сахара крови. При острых и подострых менингитах содержание сахара уменьшено. При туберкулезном менингите содержание сахара может колебаться от едва определяющихся количеств до 42 мг%, однако полное отсутствие сахара является редкостью. При стрептококковом и менингококковом менингите сахар нередко совершенно отсутствует (Фридман и др.). Увеличенное

<sup>1</sup> Фланчик С. И., Советская медицина, № 24, 1940.



по избежание гликолиза определение нужно производить возможно скорее после взятия ликвора.

6) **Определение хлоридов.** Для их определения можно пользоваться любой методикой, применяемой при исследовании крови. Содержание хлоридов, перечисленное на хлористый натрий, у взрослого равно 700—750 мг<sup>0</sup>/о, у детей — 690—725 мг<sup>0</sup>/о. Снижение наблюдается при туберкулезном менингите. При энцефалите оно нормально или же иногда спорадически понижено. Повышенное содержание наблюдается при почечных заболеваниях, особенно при уремии.

7) **Определение мочевины.** Определение мочевины, как определение хлоридов, можно производить при помощи любой методики, применяемой при исследовании крови. Среднее количество мочевины — около 14 мг<sup>0</sup>/о. При менингитах, нефритах и особенно при уремии это количество резко повышается, доходя иногда при уремии до 55 мг<sup>0</sup>/о.

## ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ВЕЩЕСТВА

Из лекарственных веществ, встречающихся в ликворе, следует упомянуть сульфонамидные препараты и пенициллин. Способы их определения те же, что и в крови.

## КОЛЛОИДНЫЕ РЕАКЦИИ

1) **Реакция Таката-Ара (1926).** Реакция производится в одной пробирке. Она состоит в том, что к подщелоченной спинномозговой жидкости прибавляют смесь раствора фуксина с раствором сулемы.

**Реактивы.** 1) 0,02% водный раствор неокислого фуксина, 2) 0,5% раствор сулемы, 3) 10% раствор химически чистого безводного углекислого натрия. Растворы сулемы и фуксина, точно отмеренные, смешиваются в равных количествах перед тем, как приступают к реакции.

**Ход реакции.** К 0,5—1 см<sup>3</sup> спинномозговой жидкости приливают безукоризненно чистой пипеткой 1 каплю раствора углекислого натрия и далее мерительной пипеткой 0,3 см<sup>3</sup> смеси фуксина и сулемы. Результат читается через 15 минут, 30 минут и 12—24 часа. Результат может быть трех типов.

Схема 1

Номер пробирки	1	2	3	4	
Степень разведения	1:10	1:20	1:40	1:80	
Хлористый натрий 0,40%	0,9	0,5	0,5	0,5	
Спинномозговая жидкость	0,1	—	—	—	—
	0,5		0,5	0,5	0,5
Коллоидный раствор золота	2,5	2,5	2,5	2,5	

1 Знак — означает, что 0,5 см<sup>3</sup> содержимого из каждой предыдущей пробирки

24 часов. Такая окраска соответствует норме. Результат считается отрицательным.

Тип II. По прибавлении реактива выпадает сине-фиолетовый осадок, а над ним остается прозрачная жидкость — дегенеративный тип реакции. Немедленное выпадение обозначается тремя крестами (+++); умеренное выпадение через 1/4 часа, которое постепенно усиливается, обозначается двумя крестами (++) ; слабое выпадение, появляющееся только через полчаса или позже, обозначается одним крестом (+) (необходимо читать реакцию вторично через этот промежуток времени).

Тип III. Получается розовая окраска (вместо фиолетовой) без выпадения осадка — воспалительный тип реакции. Обычно в таких случаях жидкость через 12—24 часа почти или совершенно бесцветна.

Прозрачная жидкость над розовым осадком оценивается как смешанная II и III типа.

Реакция, несомненно, родственна сулемовой реакции и реакции с коллоидным золотом (см. ниже), которую она до известной степени может заменить. Она заслуживает внимания, благодаря доступности реактивов и простоте выполнения.

2) **Реакция Ланге с коллоидным золотом.** Принцип реакции. Коллоидный раствор золота при воздействии на него патологической спинномозговой жидкости в присутствии электролитов (NaCl и др.) претерпевает изменение своей дисперсности. Это проявляется изменением цвета и выпадением осадка. Нормальная спинномозговая жидкость почти не вызывает этих изменений. Изменения дисперсности зависят, повидимому, от качественных изменений глобулиновых фракций белка.

При производстве реакции очень большую роль играют и количественные отношения, т. е. степень разведения спинномозговой жидкости.

Ввиду крайней чувствительности реакции, посуда должна быть безукоризненно чиста. Пробирки и пипетки моют хромовой смесью, затем тщательно прополаскивают простой и дистиллированной водой и высушивают.

**Реактивы.** 1) 1% водный раствор хлорного золота, которое отпускается развешенным в ампулах по 1 г. Содержимое ампулы разводят в 100 см<sup>3</sup> бидистиллированной воды. Ампулу предварительно кладут в теплую воду, тщательно обмывают ее поверхность, ополаскивают бидистиллированной водой, обтирают спиртом и эфиром и, разломав ее

Таблица 38

новки реакции

6	7	8	9	10	11	12
1:320 0,5	1:640 0,5	1:1280 0,5	1:2560 0,5	1:5120 0,5	1:10240 0,5	Контроль 0,5
0,5		0,5	0,5	0,5	0,5	
2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

носится в следующую.



содержание сахара в ликворе при нормальном содержании его в крови наблюдается при мозговых процессах с явлениями раздражения (при генуинной эпилепсии, энцефалитах, некоторых опухолях головного мозга). Во избежание гликолиза определение нужно производить возможно скорее после взятия ликвора.

6) **Определение хлоридов.** Для их определения можно пользоваться любой методикой, применяемой при исследовании крови. Содержание хлоридов, перечисленное на хлористый натрий, у взрослого равно 700—750 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, у детей — 690—725 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Снижение наблюдается при туберкулезном менингите. При энцефалите оно нормально или же иногда спорадически понижено. Повышенное содержание наблюдается при почечных заболеваниях, особенно при уремии.

7) **Определение мочевины.** Определение мочевины, как определение хлоридов, можно производить при помощи любой методики, применяемой при исследовании крови. Среднее количество мочевины — около 14 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. При менингитах, нефритах и особенно при уремии это количество резко повышается, доходя иногда при уремии до 55 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

## ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ВЕЩЕСТВА

Из лекарственных веществ, встречающихся в ликворе, следует упомянуть сульфонамидные препараты и пенициллин. Способы их определения те же, что и в крови.

## КОЛЛОИДНЫЕ РЕАКЦИИ

1) **Реакция Таката-Ара (1926).** Реакция производится в одной пробирке. Она состоит в том, что к подщелоченной спинномозговой жидкости прибавляют смесь раствора фуксина с раствором сулемы.

**Реактивы.** 1) 0,02% водный раствор неокислого фуксина, 2) 0,5% раствор сулемы, 3) 10% раствор химически чистого безводного углекислого натрия. Растворы сулемы и фуксина, точно отмеренные, смешиваются в равных количествах перед тем, как приступают к реакции.

**Ход реакции.** К 0,5—1 см<sup>3</sup> спинномозговой жидкости приливают безукоризненно чистой пипеткой 1 каплю раствора углекислого натрия и далее мерительной пипеткой 0,3 см<sup>3</sup> смеси фуксина и сулемы. Результат читается через 15 минут, 30 минут и 12—24 часа. Результат может быть трех типов.

Номер пробирки	Схема поста				
	1	2	3	4	5
Степень разведения . . . . .	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160
Хлористый натрий 0,4% . . .	0,9	0,5	0,5	0,5	0,5
Спинномозговая жидкость	0,1	—	—	—	—
	0,5		0,5	0,5	0,5
Коллоидный раствор золота . . . . .	2,5	2,5	2,5	2,5	0,5

1 Знак — означает, что 0,5 см<sup>3</sup> содержимого из каждой предыдущей пробирки переносится в следующую.



Тип I. Спинномозговая жидкость тотчас после прибавления реактива окрашивается в сине-фиолетовый цвет и не изменяет это в течение 24 часов. Такая окраска соответствует норме. Результат считается отрицательным.

Тип II. По прибавлении реактива выпадает сине-фиолетовый осадок, а над ним остается прозрачная жидкость — дегенеративный тип реакции. Немедленное выпадение обозначается тремя крестами (+ + +); умеренное выпадение через  $\frac{1}{4}$  часа, которое постепенно усиливается, обозначается двумя крестами (+ +); слабое выпадение, появляющееся только через полчаса или позже, обозначается одним крестом (+) (необходимо читать реакцию вторично через этот промежуток времени).

Тип III. Получается розовая окраска (вместо фиолетовой) без выпадения осадка — воспалительный тип реакции. Обычно в таких случаях жидкость через 12—24 часа почти или совершенно бесцветна.

Прозрачная жидкость над розовым осадком оценивается как смешанная II и III типа.

Реакция, несомненно, родственна сулемовой реакции и реакции с коллоидным золотом (см. ниже), которую она до известной степени может заменить. Она заслуживает внимания, благодаря доступности реактивов и простоте выполнения.

2) Реакция Ланге с коллоидным золотом. Принцип реакции. Коллоидный раствор золота при воздействии на него патологической спинномозговой жидкости в присутствии электролитов (NaCl и др.) претерпевает изменение своей дисперсности. Это проявляется изменением цвета и выпадением осадка. Нормальная спинномозговая жидкость почти не вызывает этих изменений. Изменения дисперсности зависят, повидимому, от качественных изменений глобулиновых фракций белка.

При производстве реакции очень большую роль играют и количественные отношения, т. е. степень разведения спинномозговой жидкости.

Ввиду крайней чувствительности реакции, посуда должна быть безукоризненно чиста. Пробирки и пипетки моют хромовой смесью, затем тщательно прополаскивают простой и дистиллированной водой и высушивают.

Реактивы. 1) 1% водный раствор хлорного золота, которое отпускается развешенным в ампулах по 1 г. Содержимое ампулы разводят в 100 см<sup>3</sup> бидистиллированной воды. Ампулу предварительно кладут в теплую воду, тщательно обмывают ее поверхность, ополаскивают бидистиллированной водой, обтирают спиртом и эфиром и, разломав ее

Таблица 38

Повки реакции						
6	7	8	9	10	11	12
1:320 0,5	1:640 0,5	1:1280 0,5	1:2560 0,5	1:5120 0,5	1:10.240 0,5	Контроль 0,5
0,5						
2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

носятся в следующую.



пополам, бросают себе половинки в стакан, содержащий 100 см<sup>3</sup> холодной, дважды перегнанной воды, после чего смешивают содержимое до полного растворения. Раствор сливают в чистую сухую склянку из хорошего стекла. Он стоек. Ампулу из толстого стекла не всегда удается разломить. В таких случаях нагревают оттянутый конец ее до красного каления и бросают ее в стакан с приготовленной водой. Ампула трескается и содержимое ее высыпается. От оставшегося в растворе стекла освободиться не нужно; 2) 1% раствор лимоннокислого натрия; 3) 0,4 или 0,45% раствор химически чистого хлористого натрия, т. е. раствор хлористого натрия приблизительно наполовину слабее физиологического раствора.

До сравнительно недавнего времени приготовление коллоидного раствора золота являлось самым трудным моментом реакции. Не только начинающих, но и опытных работников при этом постигала неудача. В 1934 г. Д. И. Боровской был предложен способ, значительно упрощающий это приготовление. Способ этот очень быстро завоевал всеобщее признание и прочно укоренился в практике советских и зарубежных лабораторий как в оригинальной прописи Боровской, так и с небольшими, малосущественными изменениями.

Способ Боровской. К 95 см<sup>3</sup> обычной дистиллированной воды хорошего качества приливают 1 см<sup>3</sup> 1% хлорного золота, подогревают до 90—95°, добзывают 5 см<sup>3</sup> 1% раствора лимоннокислого натрия и доводят до кипения. При правильном приготовлении после прибавления лимоннокислого натрия быстро появляется преходящее синеватое окрашивание, постепенно сменяющееся красным. Весь процесс приготовления продолжается 1—3 минуты. Важно точно соблюдать порядок прибавления реактивов: одновременное прибавление хлорного золота и цитрата дает грубодисперсные, малоустойчивые растворы. Правильно приготовленный раствор годен к употреблению в течение 2—3 месяцев.

При этом способе можно применять простую дистиллированную воду хорошего качества и посуду из обычного химического стекла, чисто вымытую и высушенную.

Производство реакции (табл. 38). В штатив ставят 12 пробирок. В первую наливают 0,9 см<sup>3</sup> раствора NaCl (3), в остальные — по 0,5 см<sup>3</sup> того же раствора. Затем пипеткой на 1 см<sup>3</sup> с делениями на 0,01 см<sup>3</sup> отмеривают 0,1 см<sup>3</sup> спинномозговой жидкости и спускают в первую пробирку; прополаскивают пипетку несколько раз в содержимом пробирки, после чего той же пипеткой переносят 0,5 см<sup>3</sup> во вторую пробирку и снова прополаскивают пипетку, переносят 0,5 см<sup>3</sup> из второй в третью и т. д. Таким путем получают разведения от 1:10 до 1:10240. В последнюю пробирку спинномозговой жидкости не прибавляют: она служит контрольной.

После того как разведение спинномозговой жидкости закончено, прибавляют во все пробирки по 2,5 см<sup>3</sup> коллоидного золота. Прилив его, каждую пробирку сильно встряхивают. Результат намечается иногда через несколько минут; однако рекомендуется учитывать его на следующее утро, оставив пробирки при комнатной температуре. Если ликвор нормален, то цвет раствора во всех пробирках остается пурпурно-красным или в одной из пробирок меняется на красно-фиолетовый (см. приложение, табл. 1). Патологический результат проявляется в изменении цвета, причем красный цвет жидкости меняется на красно-фиолетовый, фиолетовый, красно-синий, синий, светлосиний и, наконец, бесцветный. При этом характерно не только изменение цвета, но и то, с которой из пробирок, т. е. с какого разведения, оно начинается. Для ясности результаты



реакции наносят на специальную табличку в виде кривой (табл. I) или же обозначают цифрами 0, 1, 2, 3, 4, 5 и 6, причем 0 обозначает отсутствие перемены (красный цвет), 1 — красно-фиолетовый, 2 — фиолетовый, 3 — красно-синий, 4 — синий, 5 — голубой, 6 — бесцветный. Цифры пишутся в том же порядке, в каком стоят пробирки. Цифровое выражение отрицательной реакции — 00 000 000 000, дегенеративной кривой — 666 665 432 100, воспалительной кривой — 0012 456 653 100 и т. д.

Получаемые при патологических случаях кривые разделяют на два типа. Тип первый — дегенеративный — дает максимальное выпадение, начиная с первой пробирки. Наиболее резкие результаты получаются при прогрессивном параличе и при цереброспинальном сифилисе, слабее — при сухотке спинного мозга и латентном сифилисе. Аналогичные кривые могут, впрочем, наблюдаться при множественном склерозе, энцефалите и опухолях мозга.

Табл. I показывает нормальную кривую, табл. II и III (a и b) — кривые, получаемые при различных сифилитических заболеваниях.

Изменение цвета только до красно-фиолетового, захватывающее не больше 2—3 пробирок, носит название сифилитического зубца.

Тип второй — воспалительный, или менингитический. Табл. IV (a, b, c) дает примеры кривых

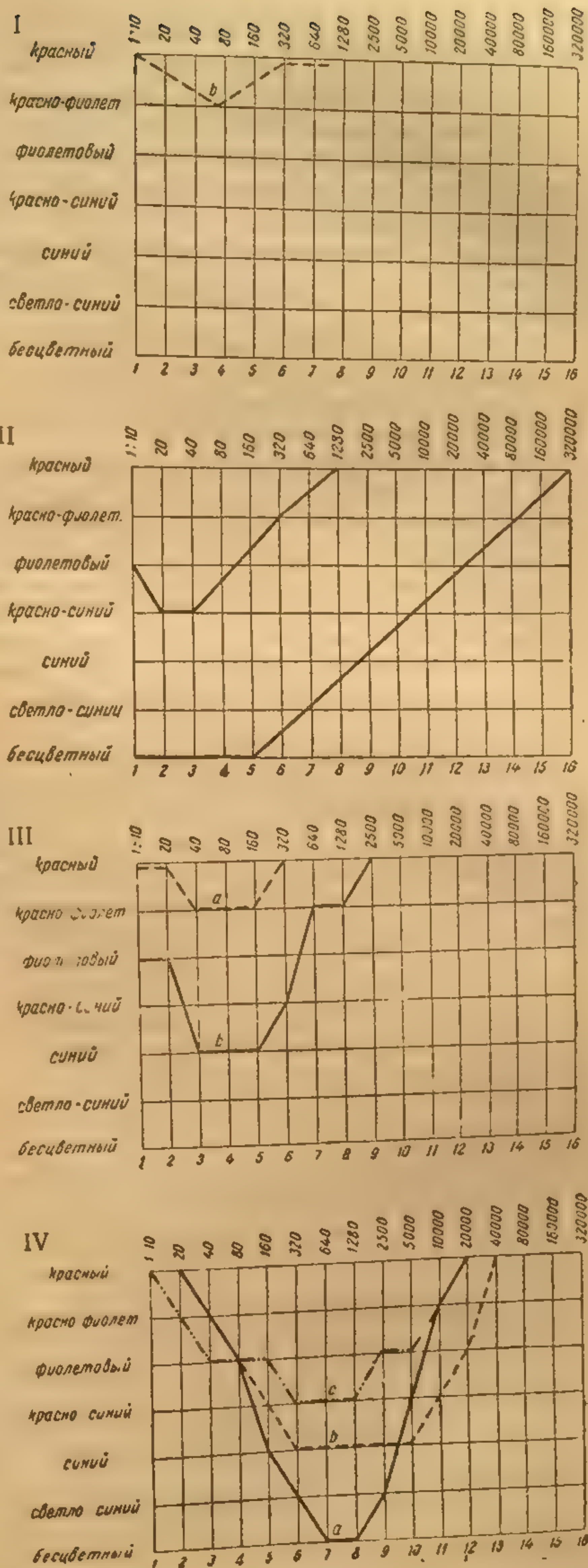


Рис. 87.



второго типа. Интенсивность выпадения и степень сдвига вправо идут параллельно содержанию белка и плеоцитозу; поэтому она резче всего выражена при гнойных и туберкулезных менингитах.

Интересно, что опухоли, несмотря на большое содержание белка, иногда дают лишь слабое выпадение или не дают его вовсе.

3) **Мастичная реакция.** Принцип реакции. Коллоидный раствор мастики, обычно осаждающийся в солевых растворах, в присутствии нормального ликвора остается неизмененным, благодаря защитному действию последнего. Патологический ликвор этим защитным действием не обладает и дает более или менее сильное помутнение раствора или полное осаждение его.

**Техника реакции.** Реактивы: 1) основной раствор мастики: 10 г смолы фисташкового дерева растирают в ступке со 100 см<sup>3</sup> абсолютного спирта, слегка подогревают, встряхивают и оставляют на леднике на 24—48 часов, после чего фильтруют; раствор может сохраняться долго; 2) рабочий раствор: смешивают 1 см<sup>3</sup> основного раствора с 9 см<sup>3</sup> абсолютного алкоголя и эту смесь медленно, по каплям, при постоянном осторожном взбалтывании вливают в колбу, содержащую 40 см<sup>3</sup> бидестиллированной воды; получается резко опалесцирующая жидкость, которая перед употреблением должна постоять около часа при комнатной температуре; для опыта употребляют только опалесцирующие растворы; мутные растворы не годятся для реакции; рабочий раствор готовят каждый раз свежий; 3) раствор повзрренной соли: из основного 10%, раствора химически чистого хлористого натрия готовят растворы 0,4%, 0,5%, 0,6% и т. д. до 1,5%.

**Предварительный солевой опыт.** В ряд пробирок наливают по 1 см<sup>3</sup> каждого из растворов хлористого натрия и в каждую пробирку — по 1 см<sup>3</sup> рабочего раствора мастики. Содержимое пробирок встряхивают 3—4 раза через 3 минуты; для реакции выбирают ту наименьшую концентрацию соли, которая дала выпадение хлопьев. Приготавливают нужное количество солевого раствора данной концентрации и на каждые 99 см<sup>3</sup> приливают 1 см<sup>3</sup> 0,5% раствора углекислого калия или натрия. Имеются указания, что можно опускать предварительный солевой опыт и работать с 1,25% раствором хлористого натрия, к которому прибавлен 0,5% раствор углекислой щелочи в указанном выше количестве.

**Основной опыт.** В штатив ставят 10 маленьких пробирок. Наливают в первую 1,5 см<sup>3</sup> солевого раствора, в остальные — по 1 см<sup>3</sup>. Затем в первую пробирку приливают 0,5 см<sup>3</sup> спинномозговой жидкости, сме-

Схема постановки реакции

Таблица 39

№ пробирки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Степень разведения	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1000	Контроль
Раствор NaCl в см <sup>3</sup>	1,5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Спинномозговая жидкость в см <sup>3</sup>	0,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	
Раствор мастики в см <sup>3</sup>	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

1 Знак — переноса (см. также табл. 38).



ливают ее содержимое и переносят 1 см<sup>3</sup> смеси во вторую, из второй в третью и так до девятой пробирки, из которой 1 см<sup>3</sup> выливают; десятая пробирка служит контролем; в нее спинномозговую жидкость не приливают. Затем вливают во все пробирки по 1 см<sup>3</sup> рабочего раствора мастики и осторожно взбалтывают каждую пробирку. Пробирки закрывают ватными пробками и оставляют в темном месте при комнатной температуре на 24 часа или в термостате на 6—12 часов. Положительный результат проявляется выпадением более или менее обильного осадка с просветлением жидкости над ним (табл. 39).

Сифилитические и метасифилитические поражения центральной нервной системы обычно дают изменения (более или менее полное выпадение или помутнение) в первых 4 пробирках, воспалительные процессы — начиная с разведения 1:64, т. е. с пятой пробирки.

## СЕРОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Исследование производится при подозрении на сифилитический или метасифилитический характер заболевания, а в последнее время и при цистицеркозе центральной нервной системы. Методика серологических реакций — см. «Серологическое исследование крови». Диагностическое значение его — см. ниже.

### СПИННОМОЗГОВАЯ ЖИДКОСТЬ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ (См. также табл. 40)

1) Гнойный менингит. При менингококковом менингите жидкость в первые дни прозрачна, но вскоре становится мутной и слегка окрашенной в желтоватый цвет. Далее она может приобретать чисто гнойный характер и давать при стоянии выпадение хлопьев гноя. При пневмококковом и стрептококковом менингите жидкость мутная, зеленоватая, иногда со свертками фибрина. Плеоцитоз резко выражен — от 100—150 до нескольких тысяч; нередко он даже не поддается подсчету. Среди клеток преобладают нейтрофилы, часто в состоянии распада (гнойные клетки). В период выздоровления на смену им появляются лимфоидные клетки и макрофаги. Глобулиновые реакции положительны. Содержание белка резко повышено, до 150—300—5000 мг%. Реакция Ланге — типичный воспалительный зубец. Реакция Таката-Ара III типа. Содержание сахара резко понижено (см. выше). Хлориды — норма или понижены. При бактериоскопическом и бактериологическом исследовании обнаруживаются соответствующие возбудители.

2) Туберкулезный менингит. Жидкость обычно прозрачна и бесцветна или обнаруживает тончайшую муть при рассмотрении в проходящем свете. Характерно образование тонкой сеточки фибрина при спокойном стоянии в прохладном месте, причем в фибриновой сеточке обнаруживаются туберкулезные палочки. Плеоцитоз очень вариабельный — от 30 до 1000 в 1 мм<sup>3</sup>, большей частью со значительным преобладанием лимфоидных клеток. Белок 30—150 мг%. Реакция Панди всегда положительная. Реакция Нонне-Апельта яснее, чем сулемовая реакция, которая может быть и отрицательной. Реакция Ланге дает разнообразные кривые — воспалительные, дегенеративные, смешанные и даже нормальные. Содержание сахара понижено; иногда его совсем не обнаруживают. Хлориды также понижены.

3) Серозный менингит. Жидкость прозрачна, цитоз обычно не превышает норму. Иногда наблюдается несколько увеличенное содержание клеток арахноэндотелия. Глобулиновые реакции обычно отрицательны.



Изменения ликвора			
Заболевание	Характер	Цитоз в 1 мм <sup>3</sup>	Глобулы выс. р.
Норма	Прозрачный бесцветный	0—3, лимфоциты	Отриц.
Серозный менингит	Нормальный	Нормальное или слегка увеличенное количество клеток арахноэндотелия	Отриц.
Полноменингит	Нормальный или опа- лесцирующий	0—2 000, сначала нейтрофилы, позже лимфоциты	—
Гнойный менингит	Помутнение различ- ной степени, часто ксантохромия	100—5 000 и больше, нейтрофилы	+++
Туберкулезный менингит	Обычно прозрачный	30—1 000, лимфоциты, иногда нейтрофилы	++
Эпитемический энцефалит	Нормальный, кровя- нистый или ксанто- хромный	10—200, лимфоциты	—
Абсцесс головного мозга	Прозрачный или мут- ный, ксантохромия	30—250, сначала лимфоциты, и нейтрофилы	+++
Опухоли головно- го и спинного мозга	Бесцветный или ксантохромия	Очень вариабельный; 10—200—1 000, полиморфный	++
Операции на го- ловном мозгу	Ксантохромия	300—1 000 и больше, нейтрофилы и позже лимфоциты	—
Цистицеркоз мозга	Нормальный	15—200, лимфоциты и эозинофилы	—
Прогрессивный паралич	Нормальный	30—200, лимфоциты	—
Сухотка спинного мозга	Нормальный	10—70, лимфоциты	—
Сифилитический менингит и менин- го-миелит	Нормальный или мутный	10—1 000, большинство лимфоцитов	—
Сифилис головного и спинного мозга	Нормальный или слег- ка ксантохромный	10—200, большинство лимфоцитов	—

Таблица 40

различных заболеваниях

Белок в м.г/о	Сахар в мг/о	Хлориды в мг/о	Бактерии	Реакция Вассермана	Реакция с коллоидным золотом
10—33	50—60	720—750	Отсут- ствуют	Отрицательная	Отрицательная
Норма или слегка повышенный	Норма	Норма	Отсут- ствуют	Отрицательная	Отрицательная
10—50, в 3% не- большое увеличение	Норма или повы- шение	Норма	Отсут- ствуют	Отрицательная	Отрицательная
Выраженное уве- личение до 500 и больше	Пони- жение	Норма или понижение	Содержатся	Отрицательная	Кривая воспалитель- ного типа
30—150 и больше	Пони- жение	500—700	Туберкулез- ные бациллы	Отрицательная	Разнообразные кривые
30—200	Норма или повы- шение	Норма	Отсут- ствуют	Отрицательная	Отрицательная или легкие изменения в первых пробирках
10—500 и больше	—	—	—	—	Отрицательная или кривая воспалитель- ного типа
Очень вариабель- ное количество	40—100	—	Отсут- ствуют	Отрицательная	То же
Выраженное увеличение	—	—	—	Отрицательная	—
Выраженное увеличение	—	—	Отсут- ствуют	Отрицательная	—
50—100	Норма или пони- жение	Норма	Отсут- ствуют	Положительная в 100%	Кривая дегенериро- ванного типа
30—60	То же	Норма	Отсут- ствуют	Положительная в 70%	То же
30—100	То же	Норма	Отсут- ствуют	Положительная в 80—90%	Кривая воспалитель- ного типа
Выраженное увеличение	—	—	Отсут- ствуют	Положительная	Кривая дегенериро- ванного типа



Изменения ликвора при

Заболевание	Характер	Цитоз в 1 мм <sup>3</sup>	Глобулиновые реакции
Норма	Прозрачный бесцветный	0—3, лимфоциты	Отрицательные
Серозный менингит	Нормальный	Нормальное или слегка увеличенное количество клеток арахноэндотелия	Отрицательные
Полиомиелит	Нормальный или опалесцирующий	0—2 000, сначала нейтрофилы, позже лимфоциты	+
Гнойный менингит	Помутнение различной степени, часто ксантохромия	100—5 000 и больше, нейтрофилы	++++
Туберкулезный менингит	Обычно прозрачный	30—1 000, лимфоциты, иногда нейтрофилы	От ++ до ++++
Эпидемический энцефалит	Нормальный, кровянистый или ксантохромия	10—200, лимфоциты	От ± до +
Абсцесс головного мозга	Прозрачный или мутный, ксантохромия	30—250, сначала лимфоциты, позже нейтрофилы	От ± до ++++
Опухоли головного и спинного мозга	Бесцветный или ксантохромия	Очень вариабельный; 10—200—400, полиморфный	От ± до ++++
Операции на головном мозгу	Ксантохромия	300—1 000 и больше, нейтрофилы и позже лимфоциты	Положительные
Цистицеркоз мозга	Нормальный	15—200, лимфоциты и эозинофилы	
Прогрессивный паралич	Нормальный	30—200, лимфоциты	От + до ++++
Сухотка спинного мозга	Нормальный	10—70, лимфоциты	От ± до +
Сифилитический менингит и менингомиелит	Нормальный или мутный	10—1 000, большинство лимфоциты	От + до ++
Сифилис головного и спинного мозга	Нормальный или слегка ксантохромный	10—200, большинство лимфоциты	От + до +++



различных заболеваний

Белок в мг%	Сахар в мг%	Хлориды в мг%	Бактерии	Реакция Вассермана	Реакция с коллоидным золотом
10—33	50—60	720—750	Отсутствуют	Отрицательная	Отрицательная
Норма или слегка повышенный	Норма	Норма	Отсутствуют	Отрицательная	Отрицательная
40—500, в 300% не- большое увеличение	Норма или повы- шение	Норма	Отсут- ствуют	Отрицательная	Отрицательная
Выраженно: уве- личение до 5 000 и больше	Пони- жение	Норма или понижение	Содержатся	Отрицательная	Кривая воспалитель- ного типа
30—150 и больше	Пони- жение	500—700	Туберкулез- ные бациллы	Отрицательная	Разнообразные кривые
30—200	Норма или повы- шение	Норма	Отсут- ствуют	Отрицательная	Отрицательная или легкие изменения в первых пробирках
40—5 000 и больше	—	—	—	—	Отрицательная или кривая воспалитель- ного типа
Очень вариабель- ное количество	40—100	—	Отсут- ствуют	Отрицательная	То же
Выраженное увеличение	—	—	—	Отрицательная	—
Выраженное увеличение	—	—	Отсут- ствуют	Отрицательная	—
50—100	Норма или пони- жение	Норма	Отсут- ствуют	Положительная в 100%	Кривая дегенериро- ванного типа
30—60	То же	Норма	Отсут- ствуют	Положительная в 70%	То же
30—150	То же	Норма	Отсут- ствуют	Положительная в 80—90%	Кривая воспалитель- ного типа
Выраженное увеличение	—	—	Отсут- ствуют	Положительная	Кривая дегенериро- ванного типа



ние белка иногда немного повышено. Сахар, хлориды — норма. Реакция Вассермана и реакция с коллоидным золотом отрицательны.

4) **Эпидемический энцефалит.** Жидкость прозрачна, иногда ксантохромна. Плеоцитоз довольно значителен (до 200). Увеличение белка обычно небольшое, но может достигать до 200 мг%. Глобулиновые реакции положительны. Реакция Ланге дает небольшое изменение в первых пробирках. Содержание сахара повышено или нормально.

5) **Полиомиелит.** Исследование спинномозговой жидкости имеет наибольшее значение в ранней стадии болезни, так как помогает поставить ранний диагноз. Однако нормальный ликвор в раннем периоде не исключает заболевания. Обычно жидкость прозрачна или слегка опалесцирует. Плеоцитоз в ранней стадии (до появления паралича) — от 30—40 до нескольких тысяч; характер его нейтрофильный. После развития паралича число клеток уменьшается. Содержание белка, увеличенное и в допаралитической стадии, в дальнейшем еще нарастает, но все же остается умеренным. Реакция с коллоидным золотом может давать кривые как воспалительного, так и дегенеративного характера. Содержание сахара повышено, в отличие от бактериальных менингитов. В период реконвалесценции нейтрофильный плеоцитоз сменяется лимфоцитарным и патологические изменения ликвора постепенно исчезают.

6) **Острые и хронические инфекции.** Изменение спинномозговой жидкости описано при многих острых инфекционных заболеваниях. Эти изменения являются частью выражением прямого участия центральной нервной системы и мозговых оболочек в основном заболевании, частью же следствием токсического влияния на систему ликвора. Изменения в ликворе обнаруживают чаще при менингеальных и цереброспинальных симптомах; наблюдается повышенное давление, плеоцитоз, обычно лимфоцитарный, повышенное содержание белка. При различных острых инфекционных заболеваниях, а также при хронических инфекциях (туберкулез) изменения приблизительно одни и те же.

Практически важно решить, имеется ли только реакция нервной системы на основное заболевание или же осложнение основного заболевания доброкачественным лимфоцитарным менингитом, септическим менингитом или энцефалитом. Однако правильное заключение на основании однократного исследования не всегда возможно.

7) **Абсцесс головного мозга.** При глубоко лежащем инкапсулированном абсцессе ликвор может не давать никаких изменений. При скоплении же гноя в оболочечных и корково-подкорковых участках во всех случаях наблюдается плеоцитоз и увеличенное содержание белка. Степень плеоцитоза вариабельна — от 30 до 250 и больше. Характер его в начале лимфоидный, позже смешанный лимфоидно-нейтрофильный или же нейтрофильный. Могут встречаться и макрофаги. Содержание белка также очень различно. Необходимо подчеркнуть, что изменения в значительной степени зависят от стадии заболевания.

При прорыве абсцесса в желудочки, наряду с тяжелой клинической картиной, наблюдаются резкие изменения ликвора: взятый вскоре после прорыва ликвор содержит значительную примесь гноя. Содержание белка может достигать до 18—20%. Под микроскопом — детрит, тени нейтрофилов, обильная бактериальная флора, иногда кристаллы билирубина. В редких случаях, не заканчивающихся летально, в дальнейшем может наблюдаться снижение белка и цитоза и замена нейтрофилов одноядерными клетками.

8) **Опухоли головного и спинного мозга.** При опухолях головного мозга в жидкости нередко не наблюдается изменений. Ксантохромия при



опухолях головного мозга наблюдается редко; чаще она имеет место при опухолях спинного мозга. Цитоз может оставаться в пределах нормы, в отдельных же случаях он достигает нескольких сотен. Состав клеток очень полиморфен. При распадающихся и кровооточающих опухолях встречаются макрофаги, иногда с включенными в их протоплазму кристаллами билирубина.

При диагностике опухолей приобрел большое значение так называемый синдром Фруан-Нонне, представляющий комплекс изменений, вызванных сдавлением спинномозгового канала опухолью. Главные его симптомы: 1) ксантохромия (жидкость имеет желтую или желтоватую окраску), 2) белково-клеточная диссоциация, т. е. нормальный цитоз или незначительный плеоцитоз при положительных глобулиновых реакциях и увеличенном содержании белка. Однако приходится учитывать, с одной стороны, что синдром Фруан-Нонне может встречаться не только при опухолях, но и при менингитах, а с другой, что при локализации опухолей вдали от желудочков мозга не обнаруживается никаких изменений в ликворе.

В редких случаях удастся найти опухолевые клетки (см. «Исследования секретов и экскретов для диагностики злокачественных новообразований»). Эта находка имеет решающее значение.

9) Цистицеркоз головного мозга. При цистицеркозе головного мозга содержание белка в спинномозговой жидкости обычно значительно повышено. Наблюдается цитоз различной степени (от 15/3 до нескольких сотен) со значительным преобладанием лимфоцитов. Характерной особенностью является наличие эозинофилов, которые иногда содержатся в ликворе в значительном количестве, и положительная реакция связывания компонента с цистицерковым антигеном в крови (см. «Кровь серологическое исследование»).

10) Послеоперационный период при операциях на головном мозгу<sup>1</sup>. В первые дни после операции наблюдается наличие крови и в связи с этим повышенное содержание белка различной степени, в зависимости от обилия кровотечения во время операции; ксантохромия, плеоцитоз (нейтрофильный) от 300 и выше до не поддающегося подсчету. В последующие дни при гладком течении — постепенное регрессирование всех патологических изменений; к 10 — 12-му дню (или раньше) — исчезновение эритроцитов, снижение содержания белка до нормы, уменьшение ксантохромии, снижение цитоза до 50 и ниже при одновременном изменении его характера из нейтрофильного в лимфоидный. При осложнении заживления раны явлениями воспалительного характера наблюдается вторичное нарастание цитоза, с резким преобладанием нейтрофилов.

11) Сифилис. а) При первичном серонегативном сифилисе в ликворе вначале может не быть изменений или же наблюдается лишь небольшой плеоцитоз. Позже присоединяется повышенное содержание белка, положительные глобулиновые реакции и иногда изменение отрицательной реакции Вассермана в положительную. В крови реакция Вассермана может при этом оставаться отрицательной.

б) При сифилисе вторичном, в отличие от первичного, плеоцитоз может быть ясно выражен, содержание белка повышено. Коллоидные реакции могут давать характерный сифилитический зубец. Реакция Вассермана часто положительна даже с малыми дозами.

в) При сифилисе третичном плеоцитоз наблюдается лишь в 20% случаев, положительные глобулиновые реакции и положительная реакция Вассермана — лишь в случаях, осложненных поражением центральной нервной системы.

<sup>1</sup> Воэная А. Ц., Вопросы нейрохирургии, № 4, 1948.



г) При латентном сифилисе в большинстве случаев ликвор никаких отклонений от нормы не представляет; лишь редко наблюдаются небольшой плеоцитоз и слабо выраженные патологические коллоидные реакции.

д) При врожденном сифилисе в ликворе грудных младенцев-сифилитиков примерно в 50% случаев обнаруживаются плеоцитоз, положительные глобулиновые и коллоидные реакции при отсутствии симптомов поражения центральной нервной системы. Реакция Вассермана в этих случаях отрицательна. Вообще же изменения в ликворе могут быть очень различны — от ничтожных до резко выраженных.

12) Сифилитические заболевания центральной нервной системы. а) Прогрессивный паралич. Жидкость обычно прозрачна и бесцветна, фибриновых свертков не содержит. Цитоз лимфоцитарный от 30 до 200, иногда встречаются плазматические клетки. Белок 50—100 мг%. Глобулиновые реакции ясно положительные. Типичная кривая при реакции Ланге (см. выше). Реакция Таката-Ара дает отчетливое выпадение осадка. Реакция Вассермана всегда положительна как с активной, так и с инактивированной жидкостью. Содержание сахара и хлоридов нормально.

б) Сухотка спинного мозга (табес). В начальной стадии заболевания жидкость прозрачна и бесцветна; плеоцитоз умеренный лимфоцитарный — 10—70 и больше клеток в 1 мм<sup>3</sup>. Содержание белка близко к норме. Глобулиновые реакции большей частью положительные. Кривая реакции Ланге промежуточного типа — между кривой прогрессивного паралича и кривой сифилиса центральной нервной системы. Реакция Таката-Ара дает результат дегенеративного типа. Реакция Вассермана положительна в 70%. В далеко зашедших хронических случаях все изменения выражены очень слабо и нетипичны. Реакция Вассермана часто отрицательна. Глобулиновые реакции редко положительны, реакция Ланге дает нетипичную кривую.

в) Сифилитический менингит и менинго-миелит. В острой стадии жидкость мутная, цитоз 10—1 000 клеток в 1 мм<sup>3</sup>, из них большинство (60—70%) лимфоциты. Увеличение белка значительно меньше, чем при цереброспинальном менингите. Глобулиновые реакции большей частью положительные. Кривая реакции Ланге — воспалительного типа, реакция Таката-Ара — II типа. Реакция Вассермана положительна в 80—90% случаев. В хронических случаях все реакции выражены слабее и могут быть даже отрицательными.

г) Гуммы центральной нервной системы вызывают преимущественно изменения неспецифического характера, аналогичные изменениям, наблюдаемым при опухолях головного и спинного мозга (см. выше). Очень часто реакция Вассермана в ликворе отрицательна, в то время как в крови она положительна.

13) Схемы исследования при некоторых заболеваниях.

1. При менингите, распознанном или подозреваемом.
1. Описание общих свойств.
2. Посев на питательные среды 0,5—1 см<sup>3</sup> спинномозговой жидкости.
3. Подсчет цитоза и дифференцирование клеточных элементов.
4. Бактериоскопическое исследование мазков из осадка, окрашенных по Граму. Способ исследования на туберкулезные палочки — см. стр. 258.
5. При подозрении на туберкулезный менингит количественное определение белка и сахара, реакция на триптофан и реакция Левинсона с сульфосалициловой кислотой и сулемой.

Серологическое  
исследование  
при сифилисе  
1. Описание  
2. Подсчет клеток  
3. Качественные  
4. Серологические  
5. Реакция с  
Бактериологическое  
исследование  
III. При поли-  
дизривации  
1. Описание  
2. Подсчет клеток  
3. Определение  
4. Коллоидные  
Бактериологическое  
исследование



Серологическое исследование и производство коллоидных реакций не представляются необходимыми.

II. При сифилисе распознанном или подозреваемом.

1. Описание общих свойств.
2. Подсчет клеточных элементов.
3. Качественные белковые реакции — Панди, Нонне-Апельта.
4. Серологическое исследование — реакция Вассермана.
5. Реакция с коллоидным золотом (Ланге).

Бактериологическое исследование обычно не требуется.

III. При полиомиелите и энцефалите, распознанном или подозреваемом.

1. Описание общих свойств.
2. Подсчет клеточных элементов и их дифференцирование.
3. Определение содержания белка и сахара.
4. Коллоидные реакции.

Бактериологическое и серологическое исследование обычно не требуется.



## ОТДЕЛ ТРЕТИЙ МОКРОТА

Мокротой называют патологические выделения дыхательных путей — легких, бронхов, трахеи, гортани, выбрасываемые посредством кашля или отхаркивания. К этим выделениям обычно примешаны секреты полости рта, глотки и носовая слизь. В некоторых случаях мокрота может также содержать патологические вещества, попадающие в дыхательные пути из соседних органов: экссудаты из полости плевры, из-под диафрагмы, из перикарда и пищевода (случаи вскрытия пищевода в бронх).

Собирание мокроты и ее хранение. Мокроту собирают в чистую сухую посуду. Перед откашливанием больной должен прополоскать рот и зев водой и при сплевывании мокроты в баночку или кружку тщательно избегать загрязнения ее наружных стенок. Для исследования собирают либо мокроту, выделенную в утренние часы, либо все количество, выделенное за сутки. До исследования желательно сохранять мокроту в холодном месте. По окончании исследования ее обезвреживают стерилизацией в автоклаве, длительным кипячением или прибавлением дезинфицирующих веществ. У больных, не откашливающих мокроты, при подозрении на туберкулез снимают под контролем гортанного зеркала слизь с голосовых связок или исследуют содержимое желудка (см. ниже).

### ГЛАВА ПЕРВАЯ МАКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Всякому исследованию мокроты должен обязательно предшествовать тщательный осмотр ее невооруженным глазом.

#### ОБЩИЕ СВОЙСТВА

1) **Суточное количество.** Оно подвержено большим колебаниям. При остром бронхите, бронхиальной астме и в начальной стадии пневмонии мокроты выделяется очень мало — иногда 2—3 плевка; при хроническом бронхите, туберкулезе легкого мокроты значительно больше — 25—100 см<sup>3</sup>; при бронхоэктазе, актиномикозе количество ее может достигать до 1—2 л, при прорыве эмпиемы — до 4 л.

Оценивая количество мокроты, нужно принимать во внимание, что дети и слабые больные выкашливают не всю мокроту и потому выделяют очень малые количества.

2) **Запах.** Свежевыделенная мокрота обычно не имеет запаха, но при стоянии она быстро становится зловонной. Противный гнилостный запах мокрота в момент ее выделения имеет при гнилостном бронхите, гангрене легкого, легочном абсцессе и злокачественных новообразованиях с не-



крозом. Особенный запах наблюдается при приеме некоторых лекарственных веществ — гваякола, скипидара, спирта.

3) **Цвет и прозрачность.** Цвет и прозрачность мокроты зависят от ее характера. Слизистая мокрота обычно прозрачна и бесцветна или имеет беловатый цвет, слизисто-гнойная и гнойная — мутна, желтоватого или зеленоватого цвета. Эта окраска объясняется отчасти примесью дериватов кровяного пигмента, отчасти присутствием различного рода микроорганизмов. Кровянистая мокрота может иметь цвет чистой крови при значительных кровотечениях, ржавый цвет, типичный для крупозной пневмонии, и коричневатый цвет, характерный для разложившейся мокроты и встречающийся при туберкулезе легких, гангрене, новообразованиях, а также иногда при хроническом катарре зева. Ржавый и коричневатый цвет зависит от присутствия гематина. При злокачественных новообразованиях может наблюдаться мокрота малинового цвета, иногда прозрачная, как желе, иногда мутная; при атипически протекающей крупозной пневмонии в редких случаях выделяется темнозеленая мокрота, при желтухе — грязнозеленая или зеленовато-желтая от присутствия билирубина. Содержание последнего можно определить при помощи химической реакции (См. «Моча». Желчные пигменты).

Мокрота может быть окрашена и экзогенными пигментами: в черноватый или сероватый цвет от угольной пыли, в цвет охры при сидерозе легкого, в синий цвет у рабочих ультрамариновых заводов, в белый — у мельников и пекарей. Случайные примеси пищевых веществ — красное вино, кофе, различные лекарства — также окрашивают мокроту в соответствующий цвет.

4) **Деление на слои.** При болезнях с обильным отделением не очень густой мокроты последняя, налитая в стеклянную посуду, обнаруживает деление на 2 или 3 слоя. В двухслойной мокроте верхний слой жидкий, бесцветный, нижний — более густой, зеленоватого или ржавого цвета; в трехслойной — верхний пенистый, содержащий слизисто-гнойные комочки, свисающие в средний слой, средний жидкий, нижний рыхлый, хлопчатый, состоящий из детрита и гнойных телец. Деление на 2 слоя наблюдается при абсцессе легкого, на 3 слоя — при гангрене легкого, гнилостном бронхите, бронхоэктазе, иногда при туберкулезе.

## ХАРАКТЕР МОКРОТЫ

Главными составными частями мокроты являются слизь, гной и кровь; иногда мокрота содержит серозную жидкость. Различают чисто слизистую, слизисто-гнойную, гнойно-слизистую, чисто гнойную, кровянистую, которая может быть чисто кровавой, слизисто-кровянистой, слизисто-гнойно-кровянистой, и серозную мокроту.

1) **Слизистая мокрота.** Слизистая мокрота представляет результат повышенного выделения слизи слизистыми железами дыхательных путей под влиянием различных раздражений, а также инфекции. Она бесцветна и прозрачна; консистенция ее вязкая, клеточных элементов в ней немного. Такая мокрота выделяется при хронических катарах зева у алкоголиков и курильщиков, при астматических припадках, при коклюше и некоторых формах острого бронхита. Необходимо подчеркнуть, что в самой легочной паренхиме образования слизи не происходит, и если имеется поражение легочной паренхимы без участия слизистой оболочки бронхов, то мокрота не будет содержать слизи. Мокрота при крупозной пневмонии — типичном поражении легочной паренхимы — состоит не из слизи, как ошибочно принято считать, а из белковых тел.



2) **Слизисто-гнойная и гнойно-слизистая мокрота.** Слизисто-гнойная мокрота встречается при большинстве заболеваний бронхов и легочной паренхимы. Эта мокрота представляет довольно однородную мутную вязкую массу; слизь и гной в ней тесно смешаны. Гнойно-слизистая мокрота неоднородна, а состоит из слизи, в которой заложены кругловатые гнойные комочки. Наблюдается она преимущественно при заболеваниях верхних дыхательных путей.

3) **Гнойная мокрота.** Чисто гнойная мокрота выделяется в очень редких случаях (например, при вскрытии эмпиемы в полость бронха), так как при прохождении через дыхательные пути к мокроте обычно примешивается хотя бы небольшое количество слизи. В отличие от слизисто-гнойной и слизистой мокроты она не обладает вязкостью, а имеет полужидкую консистенцию.

4) **Кровянистая мокрота.** а) Чисто кровавая мокрота. При чисто кровавой мокроте важно помнить, что кровь может быть не только легочного происхождения, но и из других органов, например, из полости носа, что бывает нередко, из желудка при круглой язве, из аневризмы аорты при прорыве аневризматического мешка в просвет бронха или трахеи. Кровь легочного происхождения бывает чаще всего при туберкулезе легкого, но может наблюдаться также при актиномикозе, гангрене легкого, бронхоэктазах, раке и сифилисе и, наконец, при ранениях легкого. Количество крови при туберкулезном кровохаркании может быть очень небольшим или же весьма обильным, угрожающим жизни больного (до 1—2 л). Кровахаркание бывает как в начальных стадиях болезни, так и в более поздних.

б) Слизисто-кровянистая мокрота встречается сравнительно редко: при инфарктах легкого в стадии обратного развития, иногда при поражениях верхних дыхательных путей, чаще всего носоглотки.

в) Слизисто-гнойно-кровянистая мокрота очень часто выделяется при туберкулезе, может также наблюдаться при тяжелых застойных катаррах, при новообразованиях, актиномикозе, дистоматозе, бронхоэктазе и т. д. Примесь крови к слизистой и слизисто-гнойной мокроте в виде мелких жилок и тяжей наблюдается при целом ряде заболеваний, диагностическое значение ее невелико.

5) **Серозная мокрота.** Это большей частью пенистая мокрота жидкой, клейкой, но не вязкой консистенции, довольно прозрачная, бесцветная, желтоватая или красноватая от примеси крови. Отличительный признак — большое содержание белка, обнаруживаемое при химическом исследовании (см. ниже). Наблюдается преимущественно при отеке легкого.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МОКРОТЫ НА ПРИСУТСТВИЕ БЕЛКА

Определение наличия белка, характерное, как выше сказано, для серозной мокроты, может, кроме того, до известной степени облегчить распознавание туберкулезного процесса.

При хроническом бронхите свежая мокрота содержит лишь следы белка, при туберкулезе легкого содержание белка нарастает. Степень этого нарастания зависит от активности процесса: при выраженной активности содержание белка составляет 0,2% или больше, при малой активности оно меньше 0,2%. Таким образом, определение белка может: 1) облегчить дифференциальный диагноз между начинающимся туберкулезом легкого и хроническим бронхитом, 2) до известной степени служить мерой активности легочного процесса.



**Ход определения.** Для исследования пригодна только свежая мокрота. В широкую пробирку помещают около 10 см<sup>3</sup> мокроты, приливают к ней двойной объем 3% уксусной кислоты, пробирку сильно взбалтывают и фильтруют содержимое через бумажный фильтр. В фильтрате проводят реакции на белок (реакцию Гелера и др. — см. «Моча») и определяют количество белка одним из обычных способов (Брандберг-Стольников и др.).

## МАКРОСКОПИЧЕСКИ ВИДИМЫЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ЭЛЕМЕНТЫ

Чтобы обнаружить отдельные патологические элементы, необходимо вылить всю мокроту в одну или несколько больших чашек Петри и рассматривать ее в тонком слое на черном фоне. Очень полезно при этом пользоваться лупой. Если мокрота не разливается тонким слоем, нужно перебрать ее двумя маленькими деревянными щепочками или металлическими лопзточками (последние обжигают до и после употребления). Все найденные патологические элементы подвергают затем микроскопическому исследованию. Простым глазом можно обнаружить следующие элементы.

1) **Спирали Куршмана.** Чаше обнаруживаются при микроскопическом исследовании, но иногда видны и простым глазом. Искать их надо в слизистых частях мокроты, а не в гнойных. На черном фоне они выделяются в виде беловато прозрачных штопорообразно извитых трубчатых тел, резко отграниченных от остальной бесформенной массы мокроты. Появлению их в большом количестве придается определенное диагностическое значение: при бронхиальной астме, при которой к тому же встречаются спирали больших размеров. Единичные мелкие спирали, видные только при микроскопическом исследовании, встречаются при ряде других заболеваний — пневмонии, туберкулезе легких и др.

2) **Зерна актиномикоза.** Это очень мелкие зернышки беловато- или зеленовато-сероватого цвета. Обычно они окутаны гнойной массой и обнаруживаются только при разрывании гнойных комочков. В некоторых случаях они содержатся в скудном количестве, и с большим трудом удается найти 1—2 зерна при просмотре значительной порции мокроты; иногда же их бывает очень много. Эта находка очень важна, так как она решает диагноз. Необходимо изучать эти зерна под микроскопом (см. отдел VI).

3) **Чечевицы, или рисовидные тельца.** Чечевицы — зеленовато-желтоватые довольно плотные образования творожистой консистенции величиной от булавочной головки до небольшой горошины. Они состоят обычно из детрита, туберкулезных палочек и эластических волокон. Встречаются при туберкулезе легких, происходят из каверн.

4) **Фибриновые свертки.** Обычно фибриновые свертки имеют вид клубочков беловатого или слегка красноватого цвета. Отмытые в воде от окружающей их слизи, они обнаруживают древовидное разветвление. Длина их различна: она может достигать 10—12 и даже 18 см. Консистенция эластичная. Фибриновые свертки состоят из слизи и фибрина: под микроскопом они либо бесструктурны, либо имеют волокнистое строение. Встречаются чаще всего при фибринозном бронхите, реже при пневмонии; при последней они очень мелкие. При обильном образовании эти свертки могут вызывать обширную закупорку бронхов, сопровождающуюся тяжелой одышкой.

5) **Пробки Дитриха.** Это беловатого или желтовато-сероватого цвета комочки творожистой консистенции величиной с булавочную головку и со зловонным запахом. Они состоят из бактерий, продуктов клеточного распада и кристаллов жирных кислот. Встречаются в нижнем слое трехслойной



мокроты при гангрене легкого, бронхоэктазах и т. п. Большое сходство с ними имеют пробки из миндалин, которые наблюдаются при хронических воспалительных состояниях миндалин и могут выкашливаться и в отсутствие мокроты.

6) **Дифтеритические пленки из зева и носоглотки.** Встречаются при соответствующих поражениях, они представляют собой сероватые обрывки, местами окрашенные кровью в красноватый цвет; состоят из фибрина и некротизированных клеток.

7) **Пузыри эхинококка.** При эхинококкозе легкого в случае свежего разрыва кисты выкашливается обильное количество бесцветной прозрачной жидкости, содержащей иногда значительное количество дочерних пузырей различной величины — от маленькой горошины до грецкого ореха и больше. Пузыри, в зависимости от состояния легкого, серовато-белого или желтого цвета, иногда имбибированы кровью или же пропитаны известью. Целые пузыри или же обрывки оболочки пузыря могут также выкашливаться при прорыве в легкое нагноившегося эхинококка печени. В редких случаях описано и нахождение целого сколекса с 4 присосками, хоботком и 2 венчиками из крючьев (см. ниже — «Микроскопическое исследование», а также «Каловые массы», «Животные паразиты кала»).

8) **Аскариды.** Известны случаи выделения с мокротой аскарид, однако последние чаще находят при аутопсии, так как заползание аскарид в дыхательные пути большей частью дает летальный исход.

9) **Некротизированные кусочки легкого.** Встречаются в виде черноватых обрывков различной величины при гангрене и абсцессе легкого. Под микроскопом они обнаруживают альвеолярное строение, содержат эластические волокна и зернистый черный пигмент. Часто они пронизаны соединительной тканью, кровеносными сосудами, лейкоцитами и эритроцитами. Кроме того, в них могут быть заложены кристаллы гематоидина, холестерина и иглы жирных кислот (описание всех этих элементов — см. ниже).

10) **Кусочки опухоли легких.** Появляются в тех случаях, когда новообразование начинает распадаться. Большой частью они окутаны кровянистыми массами и их легко не заметить. Исследование мокроты на присутствие элементов новообразований — см. «Исследование секретов и экскретов для диагностики злокачественных новообразований».

11) **Инородные тела.** В мокроте находили нередко разнообразные инородные тела, случайно попавшие из полости рта: вишневые косточки, семена подсолнечника, зубы, иглы, монеты, ореховую скорлупу и т. д. Инородные тела могут пребывать в легком годами. Их попадание обычно вызывает нагноительный процесс. После выкашливания может наступить самопроизвольное излечение.

## ГЛАВА ВТОРАЯ

# МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

## ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ

Микроскопическое исследование производится: 1) на свежих, неокрашенных препаратах и 2) на фиксированных, окрашенных препаратах. При приготовлении тех и других очень важен тщательный отбор материала.

1) **Свежие препараты.** Из мокроты, распределенной тонким слоем (см. выше), выбирают двумя лопаточками или пинцетом подозрительные гнойные или слизистые комочки, отделяют от них частицы величиной с булавочную головку, кладут несколько таких частиц на предметное стекло



покрывают покровным стеклом и осторожно прижимают последнее для того, чтобы мокрота распределилась равномерным тонким слоем. Все имеющиеся в мокроте подозрительные зернышки, кровяные жилки и т. п. также вылавливают и исследуют. При приготовлении препарата желательно брать не слишком много материала для того, чтобы мокрота не выступала за края покровного стекла. Если же это случилось, то рядом с первым покровным стеклом кладут второе, сдвинув первое немного в сторону. Препараты рассматривают сначала с малым, потом с большим увеличением.

2) **Фиксированные окрашенные препараты.** а) **Приготовление мазка.** Материал отбирают, как описано выше. Отобранные частицы мокроты кладут на середину предметного стекла. Затем берут второе предметное стекло и накладывают одну половину его на выбранные частицы. Прижав одно стекло к другому, раздвигают их, тем самым растирая мокроту. Накладывание, раздвигание и растирание продолжают до тех пор, пока на обоих стеклах получится тонкий равномерный слой мокроты, т. е. тонкий мазок. Мазок на том и другом стекле должен занимать не больше  $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$  поверхности стекла, чтобы руки работающего не прикасались к исследуемой мокроте и работающий не подвергался опасности инфекции. В случаях, когда желательно сохранить тонкости морфологического строения, взятый комочек не растирают, а размазывают по стеклу проволочной петлей или пинцетом.

б) **Фиксация.** Мазкам дают высохнуть на воздухе или осторожно подсушивают их, держа высоко над пламенем, и фиксируют медленным троекратным проведением через пламя газовой или спиртовой горелки, держа стекла намазанной стороной вверх. Можно также фиксировать мазки спиртом, как фиксируются мазки крови.

При приготовлении сухих препаратов начинающие часто допускают следующие погрешности: 1) берут слишком много мокроты и плохо размазывают ее; в толстом же слое очень трудно и даже невозможно найти бактерии; 2) фиксируют мокроту на огне, не высушив хорошо на воздухе; от этого белки при нагревании свертываются, и на препарате получается масса зернышек и нитей, мешающих отыскивать бактерии; 3) недостаточно фиксируют на огне, отчего мокрота сползает при обработке; 4) слишком долго держат на огне, отчего мокрота обугливается и при окрашивании получается грязный препарат.

в) **Окраска.** Высушенные и фиксированные мазки подвергают окраске. Способы окраски — см. отдел X, стр. 667. Исследование окрашенных препаратов обычно производится с иммерсионной системой; при этом каплю кедрового масла кладут прямо на препарат, не покрывая его покровным стеклом.

В свежем, неокрашенном виде исследуют образования, которые обращают на себя внимание при осмотре мокроты простым глазом и которые перечислены выше. Далее, в неокрашенном препарате отыскивают эластические волокна, кристаллические образования, дрожжевые и плесневые грибки и яйца глистов. Грибок актиномикоза исследуется как в неокрашенном виде, так и в фиксированном окрашенном. При дифференцировании клеточных элементов также пользуются как свежими, так и окрашенными препаратами. Исключительно фиксированными окрашенными препаратами пользуются при изучении бактериальной флоры мокроты.

### КЛЕТОЧНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ

В мокроте встречаются следующие клеточные элементы.

1) **Лейкоциты.** В мокроте мы находим те же виды лейкоцитов, что и в крови: нейтрофилы, лимфоциты, эозинофилы и т. д. Дифференцировать их при некотором навыке можно и на неокрашенном препарате, однако



для начинающих такое дифференцирование представляет трудности и они лучше ориентируются в препаратах, окрашенных азур-эозином или эозин-метиленовой синькой (см. «Кровь»).

а) Нейтрофильные лейкоциты обычно составляют главную массу клеточных элементов. Они рассеяны по всему препарату. От нейтрофилов крови они отличаются менее правильной формой: они могут быть вытянуты, сплющены; соединения между сегментами ядра большей частью разрушены и клетка как бы содержит 3—4 круглых ядра. При деструктивных процессах встречаются настолько дегенерированные нейтрофилы, что их невозможно отличить от других дегенерированных клеток. Такие клетки плохо воспринимают окраску.

Г. Алексеев различает три степени дегенерации нейтрофилов: первая степень — протоплазма едва заметна, ядро набухает; хроматиновая сеть становится менее четкой; вторая — протоплазма совсем исчезает, ядро становится многогранным и даже круглым; соединения между сегментами могут быть нарушены; в других случаях ядро пикнотически изменяется; третья — нейтрофилы имеют вид обрывков неправильной формы, иногда от них остаются только тени; ядра резко пикнотичны и приобретают форму финиковых косточек.

Резко дегенерированные нейтрофилы встречаются при бронхоэктазах, туберкулезных кавернах, абсцессах легкого. Появление их в большом количестве служит указанием на ухудшение процесса, а при пневмонии должно возбуждать подозрение на начинающееся абсцедирование. В противоположность этому увеличение числа хорошо сохранившихся нейтрофилов является благоприятным симптомом и обычно сопутствует клиническому улучшению. В хорошо сохранившихся нейтрофилах зернистость нередко окрашивается азур-эозином в чисто розовый цвет и может давать повод к смешению с эозинофильной зернистостью, отличаясь лишь тем, что она мелкая, точечная.

б) Эозинофилы в неокрашенном препарате выделяются своим несколько более темным видом. При внимательном рассмотрении в этих темноватых клетках видна крупная, как бы светящаяся зернистость. При окраске азур-эозином или эозин-метиленовой синькой крупная зернистость выступает особенно ярко; она сплошь наполняет клетку, и клетки эти, благодаря своей яркой зернистости, кажутся светящимися, наподобие бумажных фонариков. В отличие от эозинофилов крови в мокроте нередко встречаются эозинофилы с одним круглым ядром (рис. 88).

Эозинофилы в мокроте обычно распределены очень неравномерно; местами они лежат кучками или тяжами, которые могут тянуться на несколько полей зрения. Вокруг клеток часто рассыпаны эозинофильные зерна; в других местах при просмотре ряда полей зрения не удастся найти ни одного эозинофила. Поэтому, чтобы их найти, необходимо исследовать весь препарат, а иногда и не один.

Содержание большого количества эозинофилов характерно для бронхиальной астмы, при которой они могут составлять до 60—90% всех лейкоцитов. Они встречаются также при так называемом эозинофильном бронхите, геморрагическом инфаркте легкого, иногда при туберкулезе, раковых метастазах в легком и, как правило, при глистных поражениях легкого (эхинококк, легочная дистомы). Наконец, нам пришлось наблюдать 2 случая пернициозной анемии, леченных сырой печенью, в которых мокрота содержала очень большое количество эозинофилов. Обычно эозинофилия в мокроте наблюдается попутно с эозинофилией в крови.

в) Лимфоциты в отличие от нейтрофилов и эозинофилов могут быть не только гематогенного, но и тканевого происхождения — из



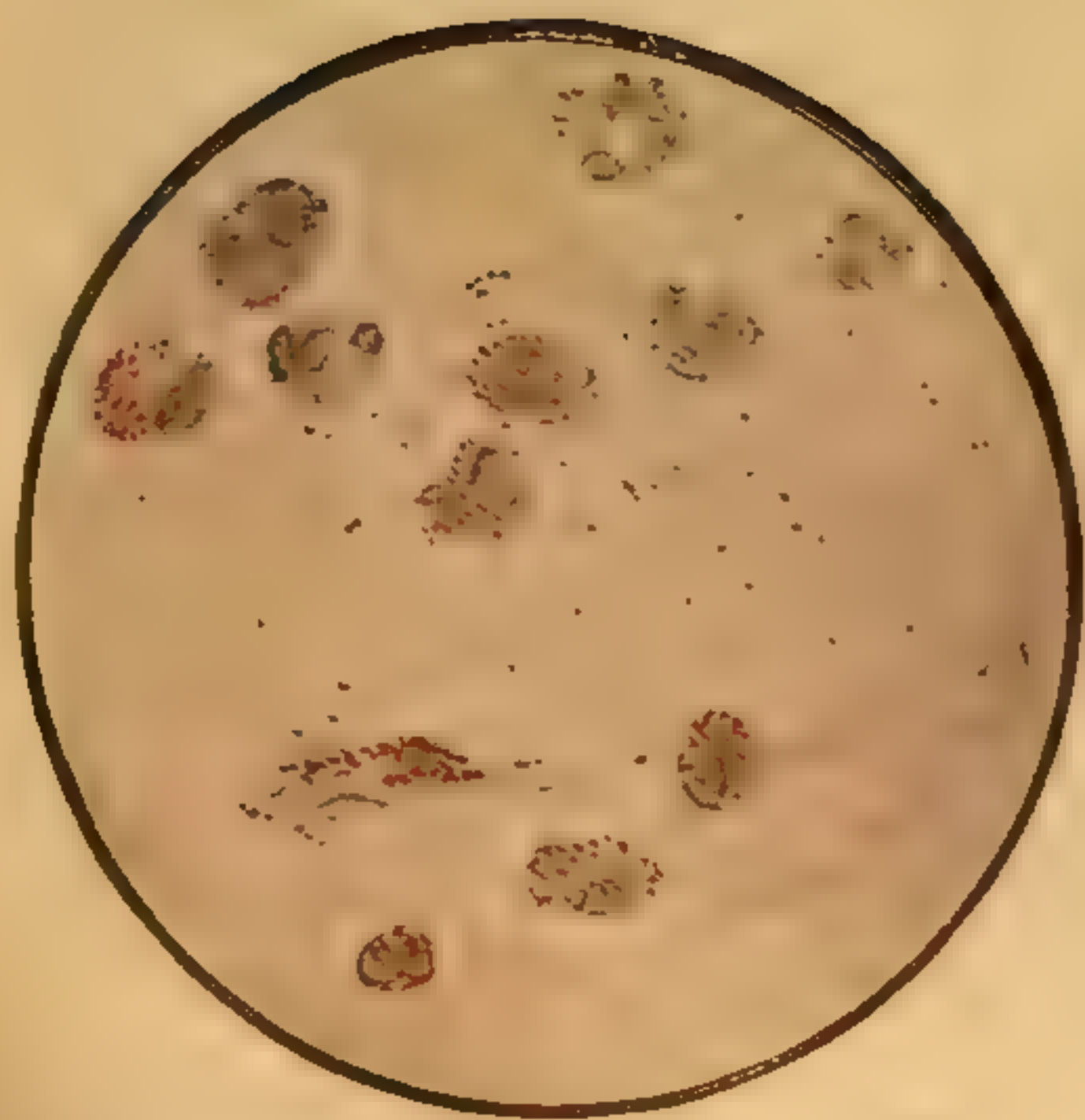


Рис. 88. Эозинофильные клетки в мокроте (масляная иммерсия).

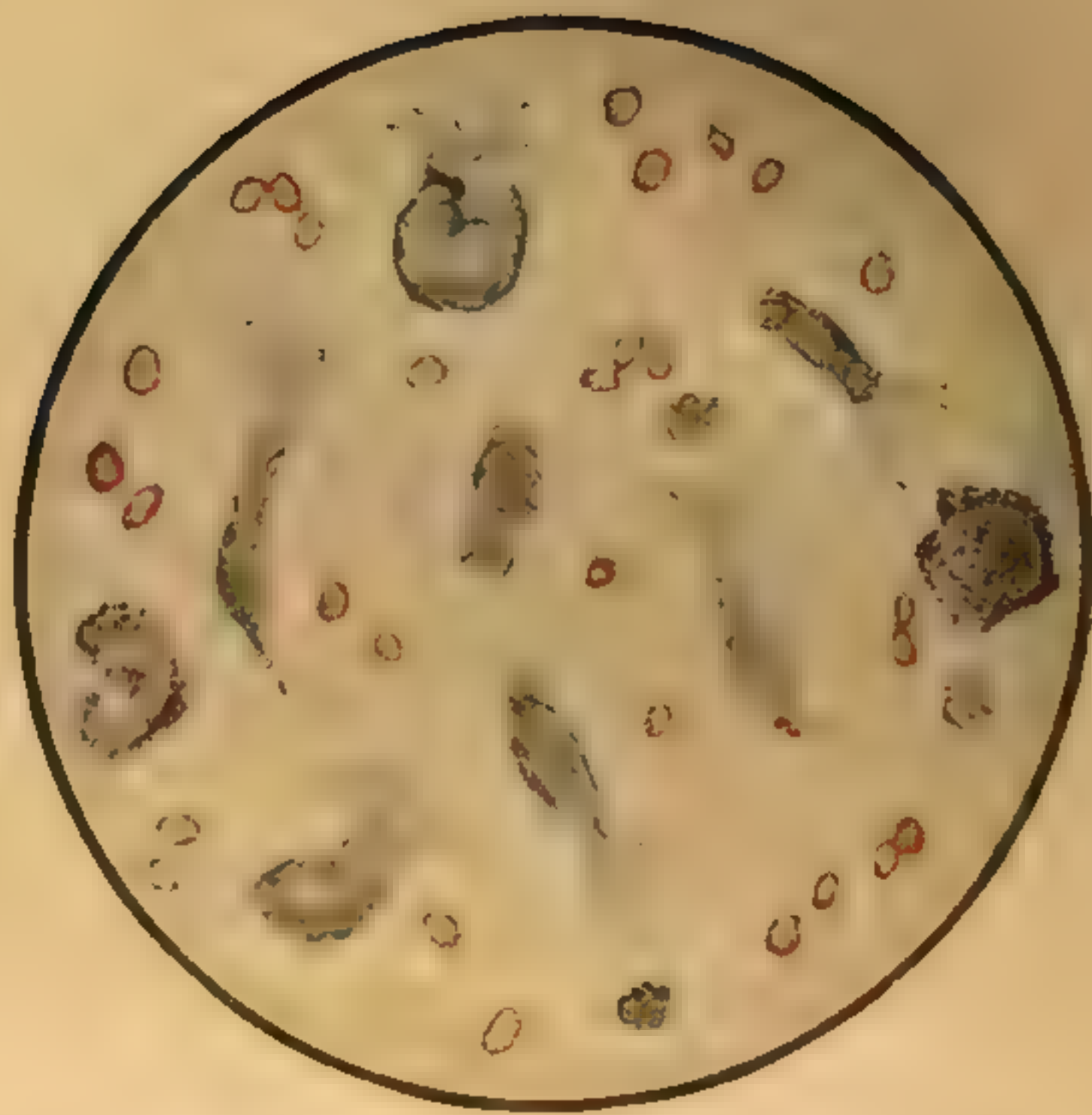


Рис. 89. Клетки цилиндрического эпителия; один нейтрофил, один эозинофил, эритроциты.

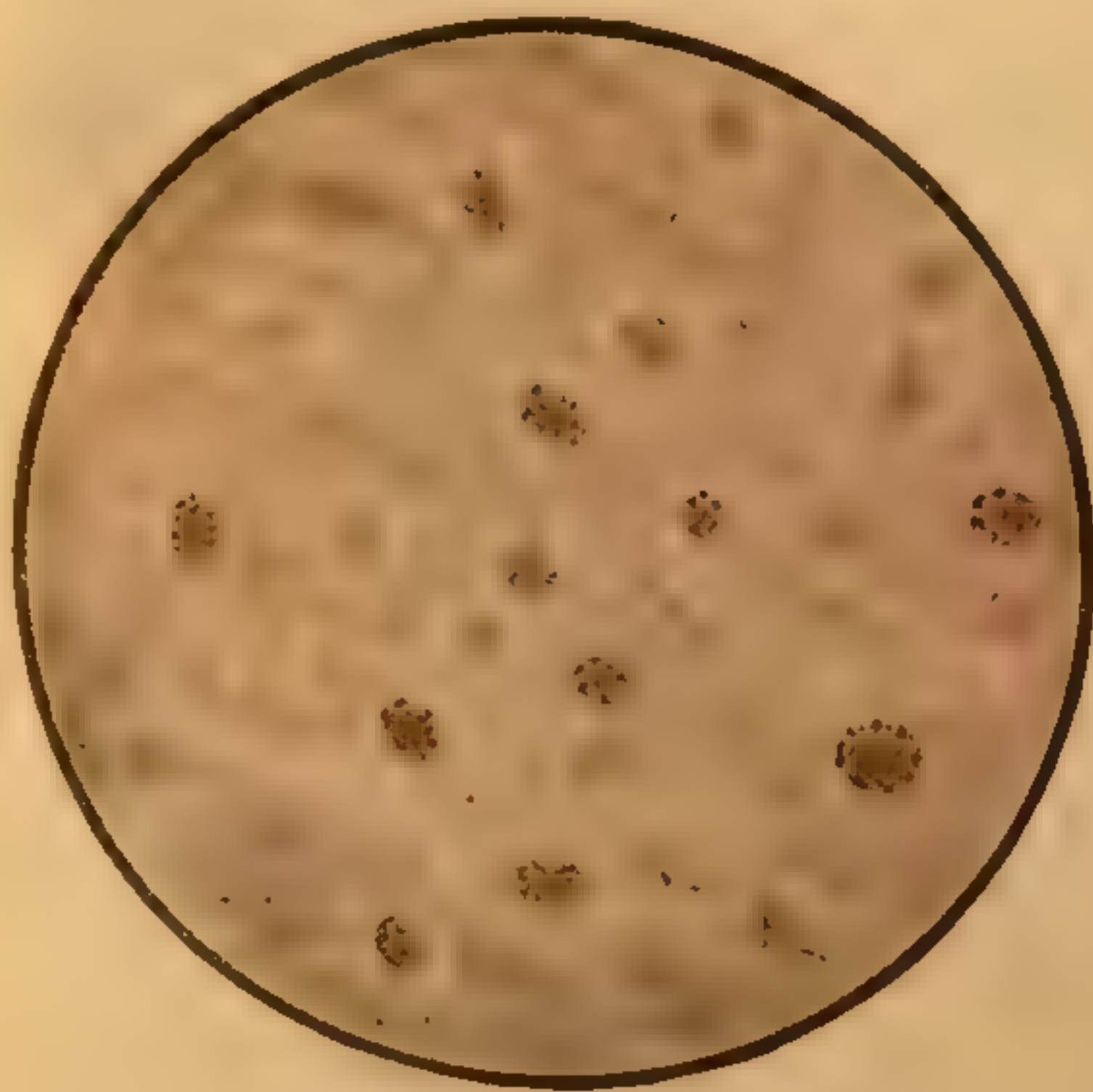


Рис. 90. Альвеолярные макрофаги, содержащие угольный пигмент (пылевые клетки).

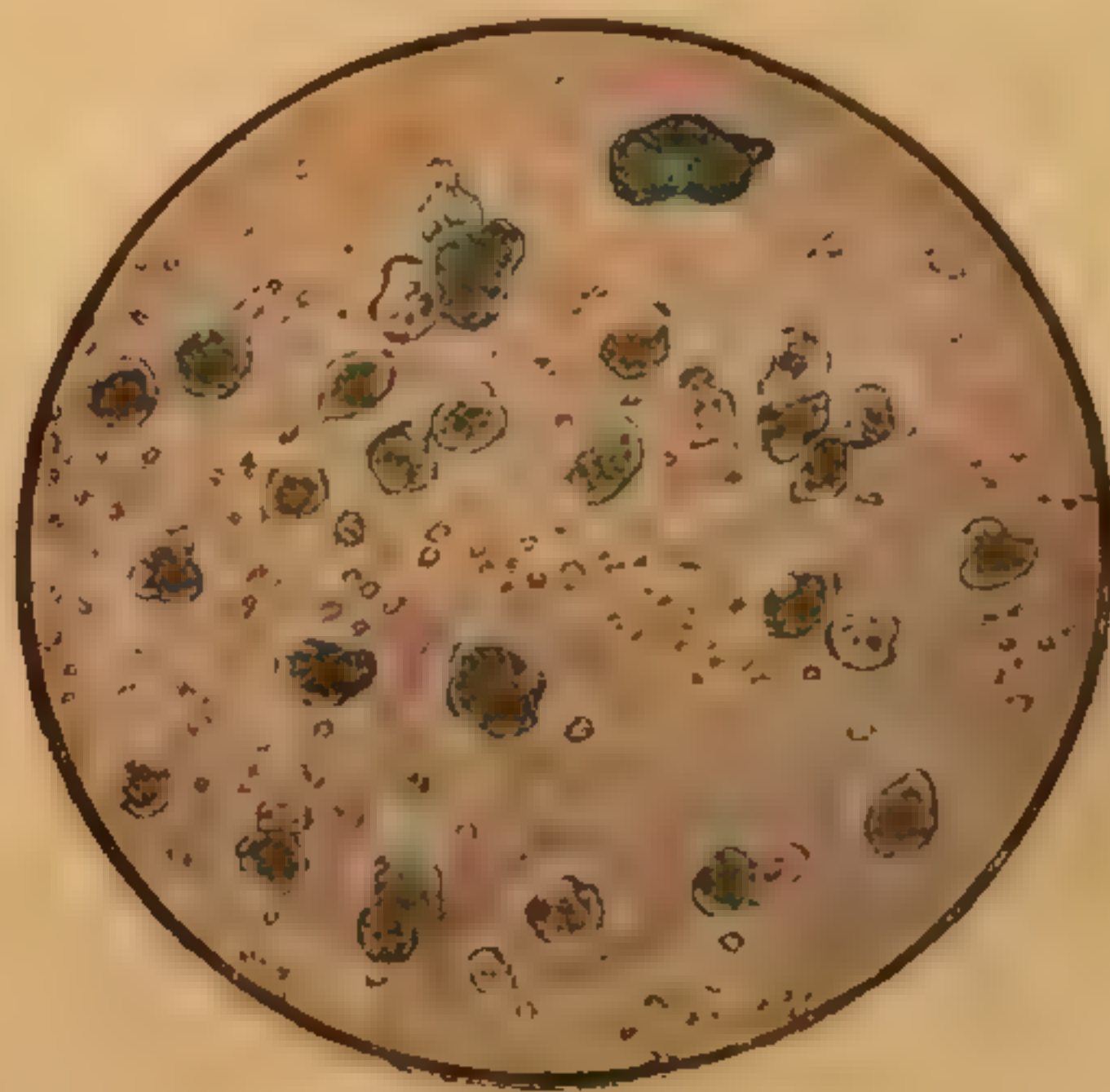


Рис. 91. Альвеолярные макрофаги, содержащие гемосидерин (клетки сердечных пороков). Обработка соляной кислотой и желтой кровяной солью (образование берлинской лазури). Объектив 6, окуляр 1.



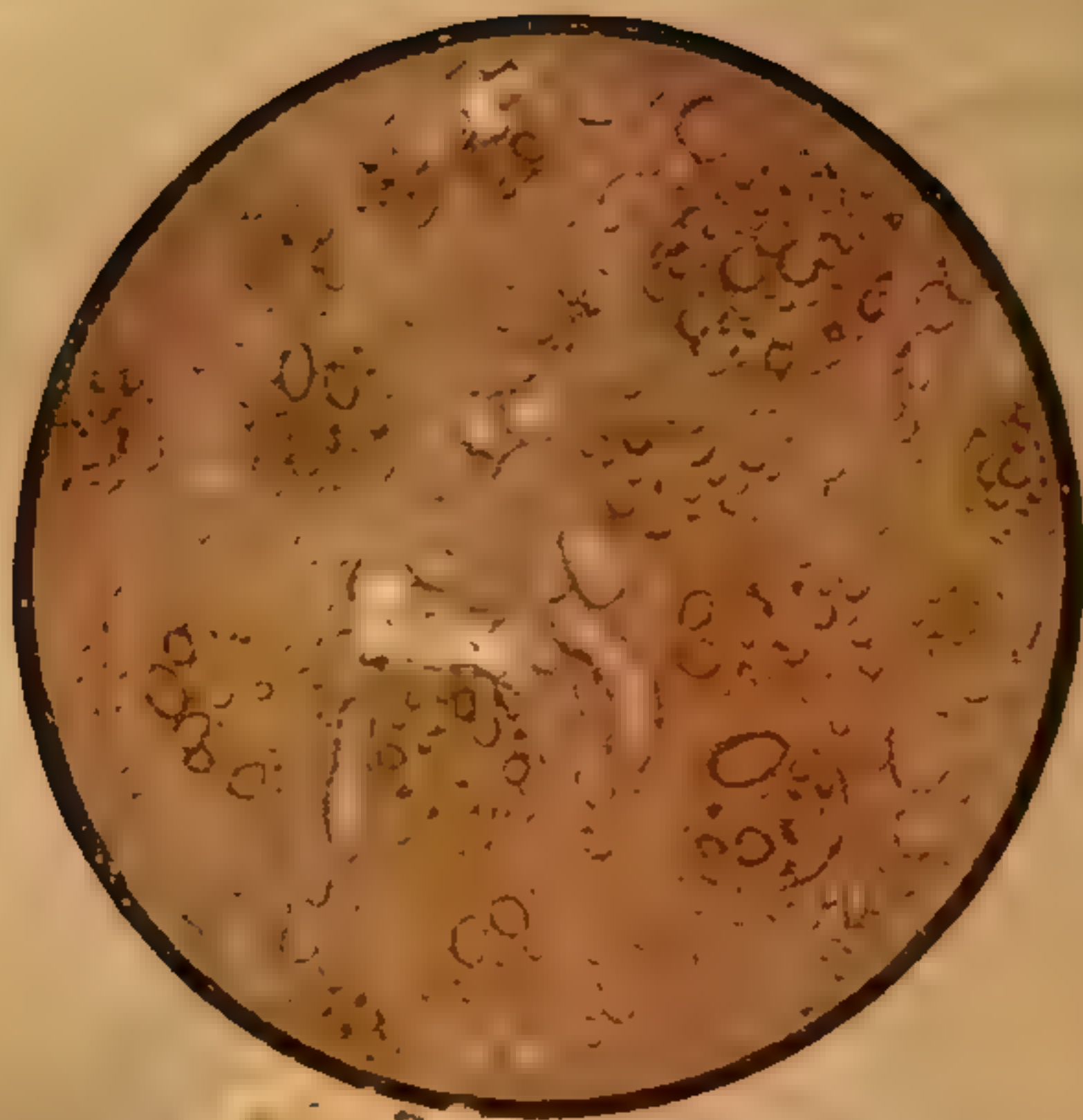


Рис. 93. Милитарные образования и милиумы перерожденные макрофаги.

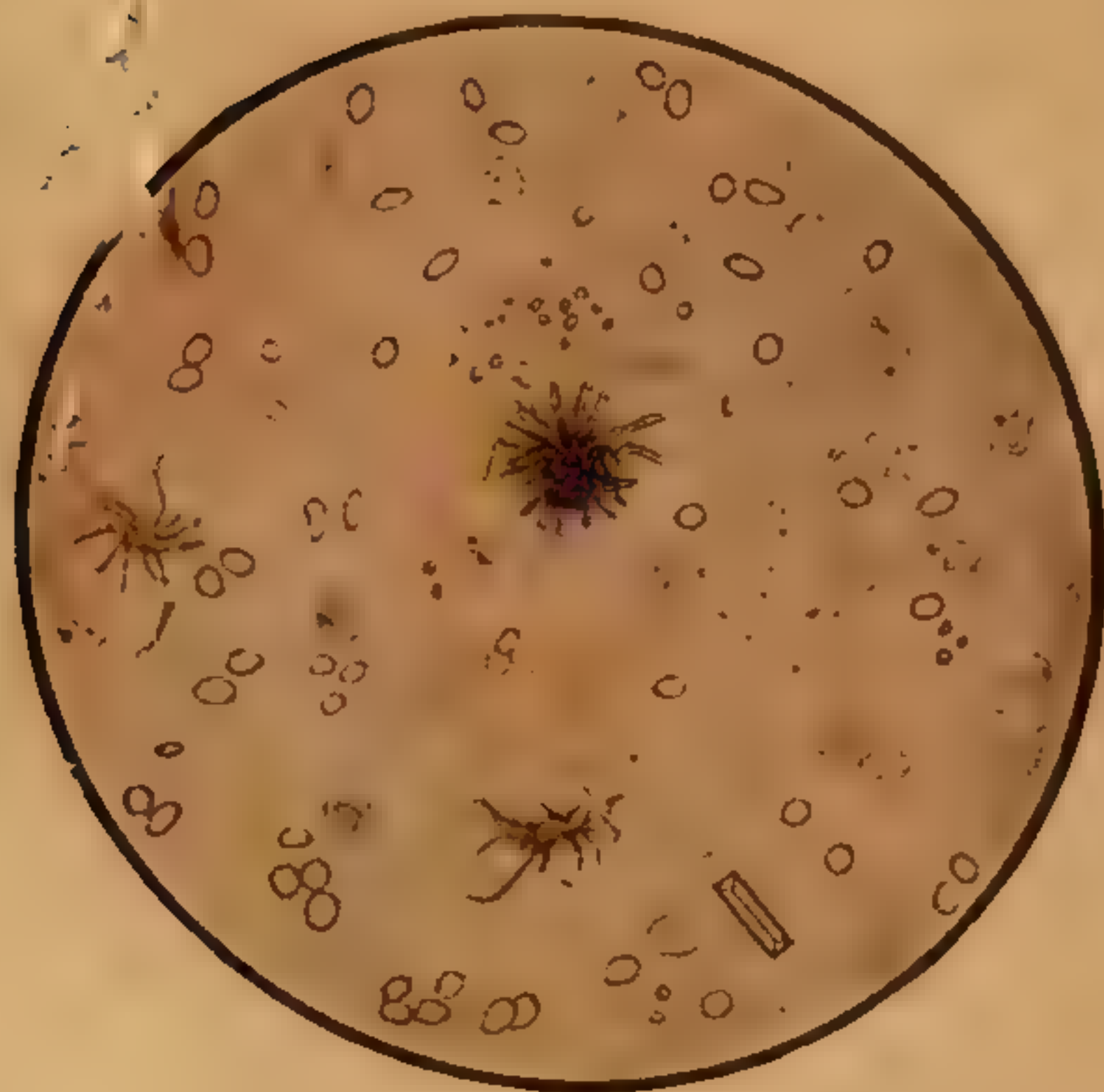


Рис. 98. Кристаллы гематоидина в мокроте.



лимфонной ткани глотки и слизистой бронхов. Те и другие по морфологии тождественны с лимфоцитами крови.

Увеличению количества лимфоцитов в мокроте некоторые исследователи придают значение при туберкулезе. В большом количестве их находили также при коклюше. Описаны случаи лимфатической лейкемии, осложненной бронхитом, при котором мокрота содержала почти исключительно одни лимфоциты.

г) Базофилы и моноциты иногда встречаются в виде единичных экземпляров.

д) Мегакарициты — очень большие клетки неправильной формы с крупным лопастным ядром. Также встречаются изредка в виде единичных экземпляров.

2) Эритроциты. Обычно сохраняют круглую форму, в плотных же массах форма их нередко неправильная; при больших количествах они не образуют монетных столбиков, а лишь соприкасаются своими краями, что, повидимому, зависит от обволакивающей их слизи. Единичные эритроциты встречаются во всякой мокроте. Указанием на легочное кровотечение служит только наличие их большого количества.

3) Эпителиальные клетки изучаются обычно на неокрашенных препаратах.

а) Плоский эпителий из полости рта, носоглотки или голосовых связок — многоугольные клетки, превышающие размеры лейкоцитов в 10—15 раз, с маленьким ядром. Края их нередко резко контурированы, иногда как бы завернуты, что наблюдается у клеток, уже частично ороговевших. Протоплазма совершенно гомогенна и не обладает способностью фагоцитоза. На поверхности клеток нередко видны микроорганизмы; последние не фагоцитированы, а просто вегетируют на них. Клетки лежат либо одиночками, либо целыми пластами. Они представляют обычную составную часть слюны. Содержатся преимущественно в слизистых частях мокроты. Диагностического значения не имеют.

б) Цилиндрический эпителий (рис. 83) из слизистой бронхов и трахеи — удлиненные клетки с вытянутым, как бы заостренным нижним концом. Клетки эти снабжены ресничками, которые, однако, видны только в свежей мокроте. Иногда удается видеть мерцание ресничек, особенно если пользоваться нагревательным столиком. Протоплазма клетки зерниста, ядро овальной формы, лежит в нижней части клетки. Цилиндрические клетки при некоторых заболеваниях изменяют свою форму: чаще всего они сильно вытягиваются, приобретая веретенообразную форму, причем один из концов может вытягиваться в длинную тонкую нить. Такие длинные вытянутые клетки, переплетенные наподобие сети, встречаются в описываемых ниже спиралях Куршмана при бронхиальной астме.

При астме наблюдается и другое изменение этих клеток, которое состоит в том, что контуры их становятся резче, протоплазма — гомогенной, блестящей, ядро исчезает и клетка по форме и блеску напоминает кристалл Шарко-Лейдена.

Цилиндрический эпителий встречается в мокроте в большом количестве, главным образом при остром приступе бронхиальной астмы, далее, при фибринозном бронхите и в начальных стадиях острых катарральных поражений верхних дыхательных путей. Нахождение его имеет диагностическое значение лишь в том случае, если исключено заболевание носоглотки, так как в носоглоточной слизи он также содержится в большом количестве.

4) Альвеолярные клетки представляют собой клетки из легочных альвеол. Эти клетки по своей морфологии резко отличаются от



так называемых клеток альвеолярного эпителия старых авторов. При лабораторных исследованиях мокроты они обычно просматриваются или принимаются за моноциты или лимфоциты, с которыми они имеют некоторое сходство. Клетки эти величиной с крупный моноцит, форма их кругловатая. Ядро крупное, круглой, овальной или вогнутой формы. Хроматиновая сеть в ядре равномерная, нерезко выраженная. Протоплазма нерезко базофильная, иногда вакуолизирована, без следов зернистости. От лимфоцитов они отличаются более обильной протоплазмой и тем, что расположение хроматина в ядре неглубокое, от моноцитов — несколько более выраженной базофилией протоплазмы и более резкой хроматиновой сетью.

Альвеолярные клетки встречаются в мокроте исключительно при воспалительных процессах в легком. В начале заболевания и при обострении процесса они содержатся в большом количестве. Появление их при бронхопневмонии указывает на наличие воспалительного очага в легком и, следовательно, имеет диагностическое значение.

5) **Альвеолярные макрофаги** — клетки альвеолярного эпителия старых авторов. Происхождение этих клеток до настоящего времени нельзя считать твердо установленным. Большинство авторов склоняется к тому, что они происходят из ретикуло-эндотелиальной ткани. Эти клетки овальной или круглой формы, больших размеров — от 25 до 50  $\mu$ , с одним ядром, лежащим большей частью эксцентрично. Иногда ядер бывает 2—4 и больше. Протоплазма вакуолизирована, содержит различные включения, окраску воспринимает плохо. Азур-эозином красится в бледный серовато-голубой цвет. Клетки эти обычно содержат различные включения.

Чаще всего встречаются клетки, содержащие частицы пыли, копоти, угля, графита и т. д., т. е. пылевые клетки (рис. 90) прежних авторов.

Фагоцитированные частицы иногда сплошь заполняют клетку и окрашивают ее в черноватый или коричневатый цвет. При значительном их содержании в такой же цвет окрашена вся мокрота. Описанные клетки содержатся чаще всего в слизистой мокроте у людей, которым по роду профессии приходится вдыхать ту или иную пыль. При острых воспалительных процессах они исчезают из мокроты и вновь появляются в стадии разрешения процесса.

Значительно реже встречаются макрофаги, содержащие гемосидерин — железосодержащий дериват кровяного пигмента (рис. 91). Это «клетки сердечных пороков» по старой номенклатуре. Под микроскопом они представляются окрашенными в лимонножелтый, золотистожелтый или бурый цвет. Содержатся в мокроте при резких застойных явлениях в малом кругу, а также при инфаркте легкого, и имеют несомненное диагностическое значение, но патогномонического значения для митрального порока не имеют. При застойных явлениях их присутствие указывает на пропотевание кровяного пигмента в полость альвеол.

Клетки эти дают специфическую реакцию на железо, которая производится следующим образом: частицу мокроты (свежей или высохшей) берут деревянной лучинкой, стеклянной палочкой или платиновой петлей (отнюдь не металлическим пинцетом или лопаточкой), кладут на предметное стекло, приливают 1—2 капли разведенной (1—2%) соляной кислоты и спустя несколько секунд столько же капель 2—5% раствора желтой кровяной соли (железисто-синеродистого калия), все вместе размешивают краем другого предметного стекла и сверху кладут покровное стекло. Через 5—10 минут пигментные зернышки окрашиваются в синий цвет, вследствие образования берлинской лазури. Реакцию



можно проделать и макроскопически в чашке Петри: к мокроте приливают 5 капель крепкой соляной кислоты и 10 см<sup>3</sup> 20% раствора желтой кровяной соли и размешивают тот и другой реактив в мокроте. Реакция появляется примерно через 10 минут. Основная масса мокроты окрашивается в бледнозеленый цвет, частицы, содержащие гемосидерин, — в интенсивно зеленый или синий цвет.

6) **Жировые шары** (рис. 92). Клетки, повидимому, различного происхождения, подвергшиеся жировому перерождению, заполненные жировыми капельками. Наряду с клетками, имбибированными жиром, обычно встречаются свободные жировые зернышки. Жировые шары нередко теряют очертания клеток, и ядро в них тоже не видно. В отличие от миэлина (см. ниже), жировые шары и капли окрашиваются суданом III в красный цвет (см. «Каловые массы». Микроскопическое исследование).

Жировые шары встречаются при процессах, связанных с разрушением легочной ткани: абсцессе легкого, туберкулезе легкого новообразованиях и в особенно большом количестве при актиномикозе.

7) **Гигантские клетки** — овальные или круглые, до 60 мм в диаметре, содержащие 5—12 ядер; в редких случаях встречаются при туберкулезе легких.

8) **Миэлиновые образования в клетках** (рис. 93). Клетки, содержащие миэлиновые образования, как и макрофаги, представляют собой большие круглые или овальные клетки, содержащие совершенно бесцветные капельки различной величины и формы — круглые, овальные или почкообразные. Иногда эти капельки заполняют всю клетку. Нередко имеются и свободно лежащие миэлиновые капли. При нажимании покровного стекла миэлиновые образования выдавливаются из клеток и меняют свою форму. Контуры их очень нежны, значительно нежнее, чем контуры

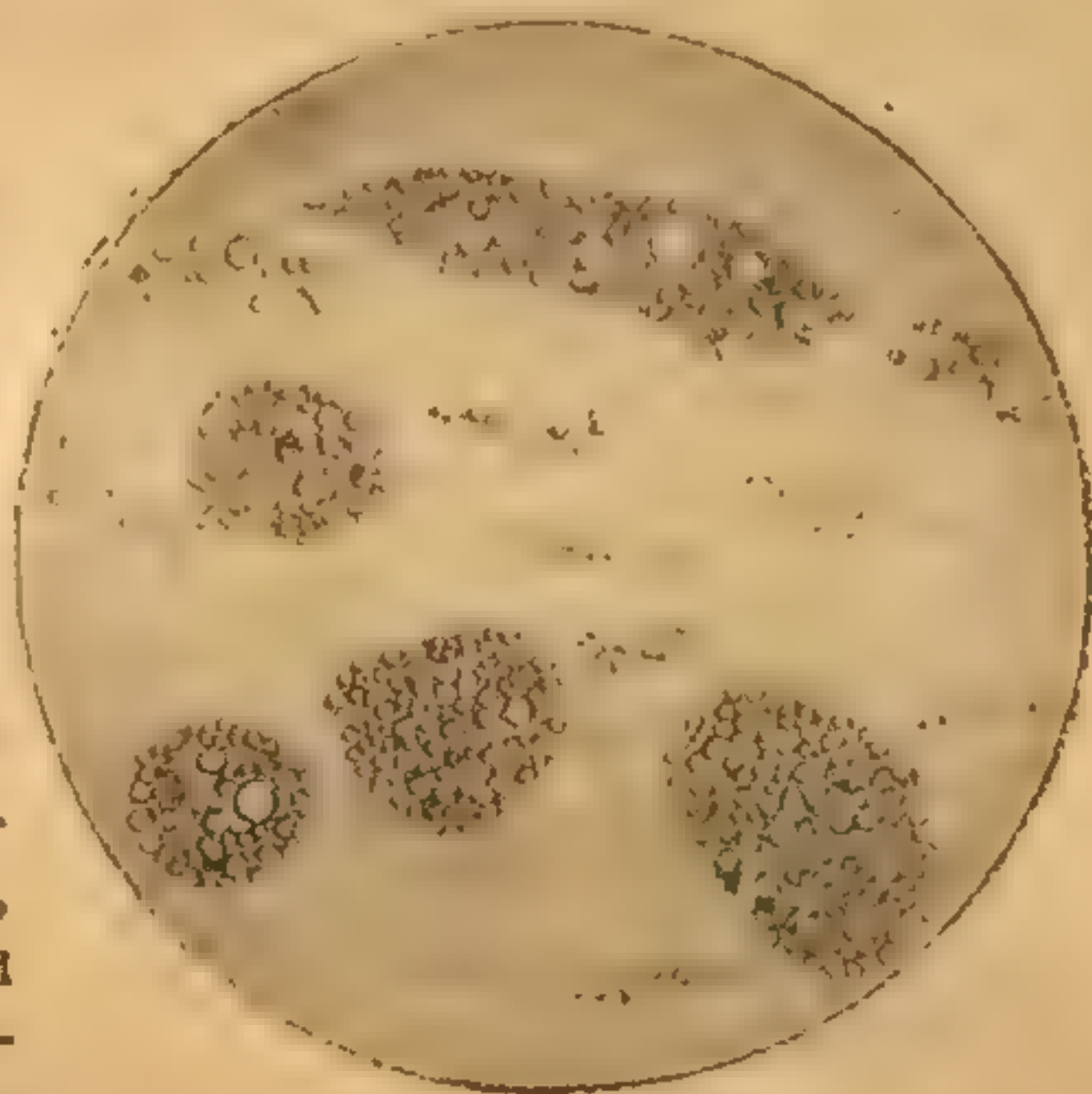


Рис. 92. Жировые шары при раке легкого (масляная иммерсия).

жировых капель, но иногда от них трудно отличимы. Клетки, содержащие миэлин, как и свободные миэлиновые образования, находятся либо в чисто слизистой мокроте, либо в слизистых частях слизисто-гноющей мокроты. Они встречаются чаще всего в мокроте, выделяемой по утрам людьми с хроническими поражениями зева и гортани. Их происхождение не выяснено. Диагностического значения они, повидимому, не имеют.

9) **Опухолевые клетки** удается иногда обнаружить при злокачественных опухолях легкого при исследовании простого нативного препарата. Морфология их очень различна, в зависимости от характера опухоли. Обычно это крупные клетки с одним большим или несколькими крупными ядрами. Хроматиновая сеть в них отчетливо выражена, часто представляется разреженной. Иногда в ядре видны фигуры кариокинеза. Протоплазма вакуолизирована. Клетки лежат либо одиночками, либо в виде конгломератов, иногда представляющих синцитиальное расположение. Одновременно мокрота содержит жировые шары, а также альвеолярные макрофаги.

Опухолевые клетки представляют большие трудности для распознавания, особенно ввиду того серьезного значения, которое имеет их обнаружение (подробнее см. отдел IX).



## СПИРАЛИ КУРШМАНА

Спиральи Куршмана (рис. 94 и 95) рассматриваются почти исключительно в свежем препарате. Они состоят из спирально извитых тонких волоконцев (мантии), в центре которых находится довольно толстая извитая блестящая центральная нить. Центральная нить во многих местах перекручивается, образуя петли, вследствие чего выделяется еще резче. Иногда ее в спирали не бывает; встречаются также голые центральные нити без мантии. По периферии спиралей расположены лейкоциты, клетки цилиндрического эпителия и кристаллы Шарко-Лейдена. Наблюдаются и не вполне типичные спирали, состоящие из слизистых волоконцев, частью спирально извитых, частью вытянутых в длинную нить, или же из сильно вытянутых в длину клеток с длинными, спирально закрученными отростками.

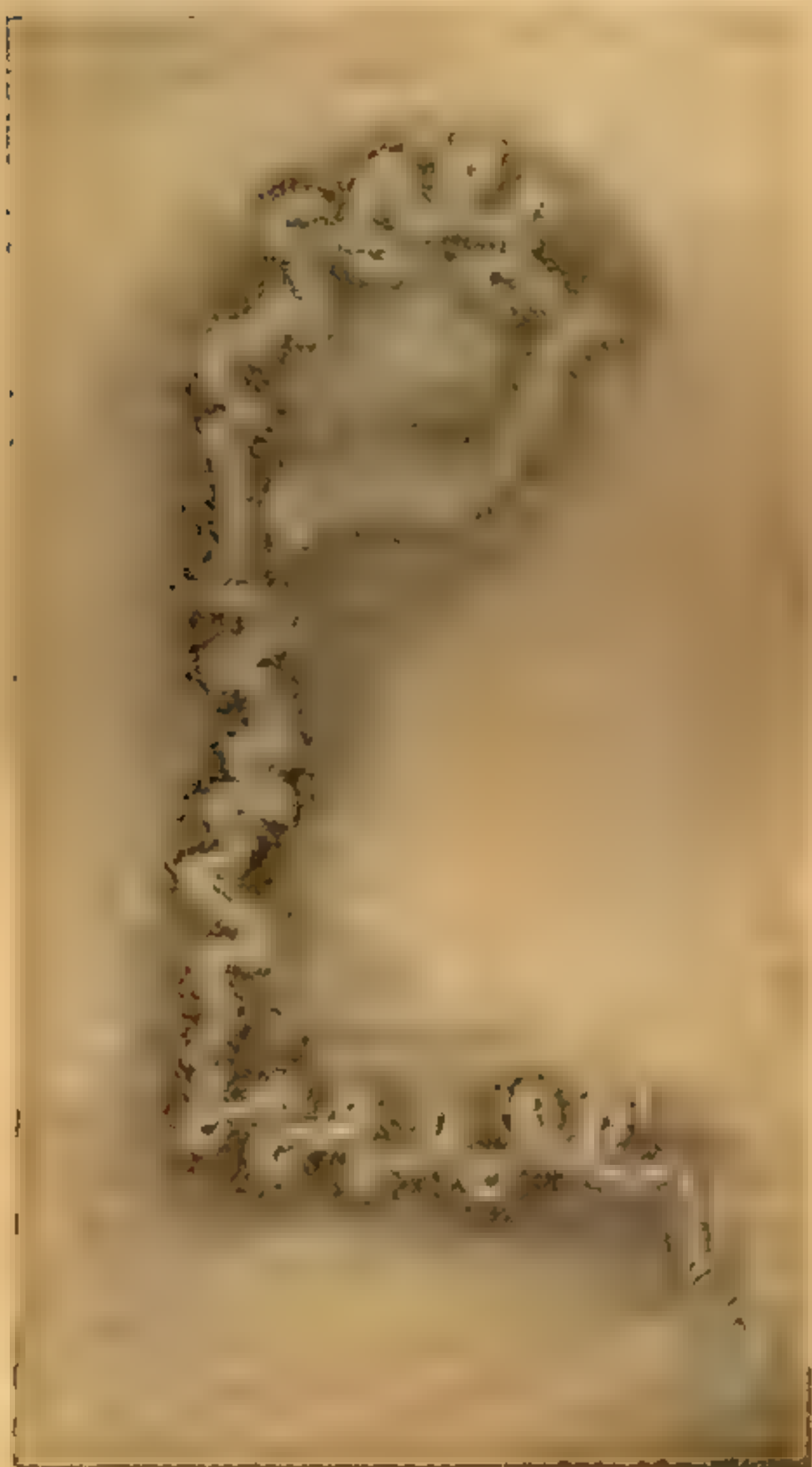


Рис. 94. Спираль Куршмана. Объектив 3, окуляр I.



Рис. 95. Спираль Куршмана, состоящая из волокон слизи и вытянутых клеток бронхиального эпителия. Объектив 6, окуляр III.

По Предтеченскому, тонкие волокна, составляющие мантию спиралей, представляют сильно вытянутые и извитые лейкоциты. Предтеченский считал, что типичные спирали при бронхиальной астме образуются из слизисто-эозинофильного комочка и потому часто содержат много эозинофилов и кристаллов Шарко-Лейдена; спирали же при других заболеваниях (крупозная пневмония, туберкулез легких, отек легкого), по его мнению, образуются из слизисто-нейтрофильного комочка. Последние обычно не содержат ни эозинофилов, ни кристаллов Шарко-Лейдена (см. также стр. 277 и 281).



## ЭЛАСТИЧЕСКИЕ ВОЛОКНА

Для нахождения эластических волокон наиболее важен тщательный отбор материала: берут по маленькой частице из нескольких более или менее плотных гнойных комочков, готовят свежий препарат, который обязательно сначала исследуют с малым увеличением и лишь затем с большим. При малом увеличении пучки волокон бросаются в глаза своим более темным цветом (рис. 96). Для большей ясности начинающим рекомендуется прибавлять к препарату 1—2 капли 10% раствора едкого кали или натра, так как щелочь растворяет слизь, фибрин и лейкоциты. При отрицательном результате исследования нативного мазка прибегают к специальной обработке: несколько комков мокроты помещают в широкую пробирку или колбочку, приливают равный объем 10% раствора едкой щелочи и нагревают смесь до кипения и до растворения мокроты; затем сливают ее в центрифужную пробирку, в которую налито 5—7 капель 1% спиртового раствора эозина, и центрифугируют. Препараты готовят из осадка. Эластические волокна в таком препарате ясно выделяются своей блестящей оранжево-желтой окраской и характерными очертаниями. Растительные волокна, которых в таких препаратах довольно много, окрашены значительно слабее и отличаются своей структурой и очертаниями.



Рис. 96. Эластические волокна.  
Большое увеличение

В мокроте встречаются три разновидности эластических волокон.

Обычно встречающиеся волокна представляют тонкие круглые, резко контурированные, изящно извитые нити, сильно преломляющие свет. Обычно они лежат по нескольку в ряд, и нередко их расположение сохраняет форму легочных альвеол. Значительно реже встречаются так называемые коралловые и обызвествленные волокна. Коралловые волокна (волокна Коппен-Джонса) — грубые, раздутые, с колбообразными утолщениями на концах, что является следствием отложения на волокнах жирных кислот и мыл. Иногда попадаются обызвествленные волокна (С. Л. Эрлих, 1920), также грубые, утолщенные, нередко состоящие из отдельных фрагментов. Чтобы отличить коралловые волокна от обызвествленных, достаточно прибавить к препарату 1—2 капли 10—20% раствора едкой щелочи; коралловые волокна при этом приобретают вид обычных нежных волокон, вследствие растворения жирных мыл.

При нахождении волокон нужно быть очень осторожным, чтобы не смешать их с эластическими волокнами из пищи, и, помимо того, придавать их нахождению безусловно важное диагностическое значение только в тех случаях, когда они представляются не в виде отдельных волокон, а обнаруживают ясное альвеолярное расположение.

Эластические волокна встречаются в мокроте при всех заболеваниях, при которых происходит разрушение легочной паренхимы (туберкулезе, гангрене легкого, абсцессе), и, следовательно, присутствие их не патогномонично для туберкулеза. Отличие перечисленных заболеваний от туберкулеза состоит в том, что при них не находят туберкулезных папочек.



## КРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ ОБРАЗОВАНИЯ

1) **Кристаллы Шарко-Лейдена** (рис. 97). Кристаллы Шарко-Лейдена в астматической мокроте нужно искать не в прозрачных, светлых частях, а в более темных зернистых комочках. Они имеют вид гладких бесцветных заостренных по концам октаэдров, причем концы их иногда тупо срезаны. Поверхность кристаллов гладкая, края как бы резко обрезаны. Величина их колеблется от едва видимых при большом увеличении микроскопа до размеров, во много раз превышающих белые кровяные клетки. Кристаллы эти похожи на кристаллы Бетхера, которые обычно содержатся в семенной жидкости; однако химический состав тех и других различен: кристаллы Шарко-Лейдена красятся раствором Люголя в желтый цвет, кристаллы Бетхера — в темносиний.

Упомянутые сероватые комочки иногда сплошь состоят из кристаллов. Нередко, однако, кристаллы встречаются в единичных экземплярах



Рис. 97. Кристаллы Шарко-Лейдена.  
Объектив 6, окуляр III.

или же заложены только в спиральных Куршмана. Часто свежевыделенная мокрота их не содержит, а при стоянии препарата под покровным стеклом, т. е. без доступа воздуха, они образуются через 24—48 часов. Кристаллы Шарко-Лейдена растворимы в теплой воде, соляной, азотной, фосфорной, уксусной и других кислотах, в едких щелочах, аммиаке и эфире; они нерастворимы в холодной воде, алкоголе, ксилоле, хлороформе.

Характерно их присутствие при бронхиальной астме не столько на высоте приступа, сколько в свободное от него время. Кроме бронхиальной астмы, они встречаются при так называемом эозинофильном бронхите, а также при глистных поражениях легкого. В редких случаях их находят

при крупозной пневмонии, различных бронхитах и туберкулезе. Большинство авторов считает, что они образуются из эозинофилов. Они встречаются нередко и в испражнениях, обычно совместно с эозинофилами (см. «Каловые массы»).

2) **Кристаллы гематоидина и билирубина** (рис. 98). Кристаллы гематоидина представляют ромбические таблички или звездообразные пучки игол, легко узнаваемые по буро-красному цвету. Наряду с кристаллами, обыкновенно встречаются также кучки буро-красных зернышек и постепенные переходы от кристаллической формы к аморфным массам.

Кристаллы гематоидина и билирубина не растворяются в воде, спирте, эфире, но растворяются в крепкой едкой щелочи; при прибавлении 1—2 капель реактива Гмелина (см. «Моча». Желчные пигменты) они окрашиваются последовательно в зеленый, фиолетовый, красный и светложелтый цвет.

Кристаллы гематоидина обычно лежат свободно; аморфные же массы бывают заключены в протоплазме белых кровяных шариков и альвеолярных макрофагов. Появление их можно было бы ожидать после всякого легочного кровотечения; однако наблюдения показывают, что они встречаются только при некоторых заболеваниях, чаще всего при легочном



абсцессе, при обратном развитии геморрагического инфаркта и после кровохаркания у туберкулезных больных; реже — при легочной гангрене, гнилостном бронхите, вскрытии эмпиемы в легкое.

В случаях, когда абсцесс печени пролагает себе путь в легкое и вскрывается через дыхательные пути, в мокроте появляется большое количество кристаллов билирубина в виде буроватокрасных кристаллов и их обломков, которые ни морфологически, ни химически не отличаются от кристаллов гематоидина.

**3) Кристаллы жирных кислот и мыл.** Те и другие подробно описаны в разделе «Каловые массы» (стр. 537). Они бывают расположены одиночно или группами и пучками. В большом количестве кристаллы встречаются при гангрене легких и гнилостном бронхите, реже при туберкулезе легких и бронхоэктазах. Отдельные кристаллы находили также в выделении хоан и в пробках из лакун миндалевидных желез. Здесь легко смешать их с нитями *Leptothrix*. Смешать их можно, кроме того, с иглами тирозина, особенно если они лежат плотными пучками; однако в отличие от последних кристаллы жирных кислот растворяются в эфире и плавятся при нагревании, так что если осторожно нагреть стекло с препаратом на маленьком пламени (над зажженной спичкой), они плавятся и превращаются в капли. Мыла от кристаллов тирозина отличаются легкой растворимостью в уксусной кислоте.

Кристаллы жирных кислот и мыл имеют диагностическое значение лишь в тех случаях, когда встречаются в значительном количестве в виде крупных пучков, служа при этом указанием на процессы распада в бронхах или легочной ткани. Об отложении мыл на поверхности эластических волокон было сказано выше.

**4) Кристаллы холестерина.** Кристаллы холестерина встречаются в мокроте в редких случаях, когда имеется большое количество мокроты, задерживающейся продолжительное время в дыхательных органах и подвергающейся бактериальному разложению, при хронических легочных абсцессах, а также при туберкулезе легких, если имеется казеозное перерождение. Они имеют вид прозрачных, совершенно бесцветных ромбических таблиц, обломанных на одном углу, и распознать их обычно нетрудно.

**5) Кристаллы лейцина и тирозина.** Кристаллы лейцина и тирозина могут встречаться в мокроте при тех же условиях, как и кристаллы холестерина, но значительно реже. Описание их — см. «Мочевые» осадки.

**6) Другие кристаллические образования** — щавелевокислый кальций, фосфорнокислый аммиак — магнезия (трипельфосфат), углекислый и фосфорнокислый кальций, встречающиеся иногда в мокроте, диагностического значения не имеют.

**7) Тетрада Эрлиха.** Одновременное нахождение обызвествленных эластических волокон, обызвествленного распада, кристаллов холестерина и мелких туберкулезных бацилл было названо Эрлихом тетрадой, указывающей на раскрытие старого казеозно-известкового очага.

## АСБЕСТОВЫЕ ТЕЛЬЦА

Асбест — силикат, относительно которого доказано, что длительное воздействие его пыли на органы дыхания способно вызвать развитие пневмокониоза, т. е. специфического профессионального заболевания дыхательных путей<sup>1</sup>. У работающих на асбестовом производстве свыше 5 лет

<sup>1</sup> Ковнацкий, Клинико-гигиенические материалы по оздоровлению труда в асбестовой промышленности, вып. 1, 1940.



он обнаруживается в 40% случаев, у работающих свыше 8 лет — в 77%. Изменения легочной ткани заключаются главным образом в диссеминированном прогрессирующем фиброзном воспалении, которое нередко ассоциируется с туберкулезом. Оно может быть причиной полной потери трудоспособности и может заканчиваться летально. При этом на вскрытии в легочной ткани находят большое количество асбестовых телец (рис. 99). В мокроте эти тельца обнаруживаются далеко не во всех случаях и найти их нелегко. Они имеют вид золотисто-желтых или коричневатых телец, сильно преломляющих свет. Величина их очень различна: длина колеблется от 20 до 100  $\mu$ , составляя в среднем около 70  $\mu$ . Форма в высшей степени своеобразна и трудно поддается описанию; тельце состоит

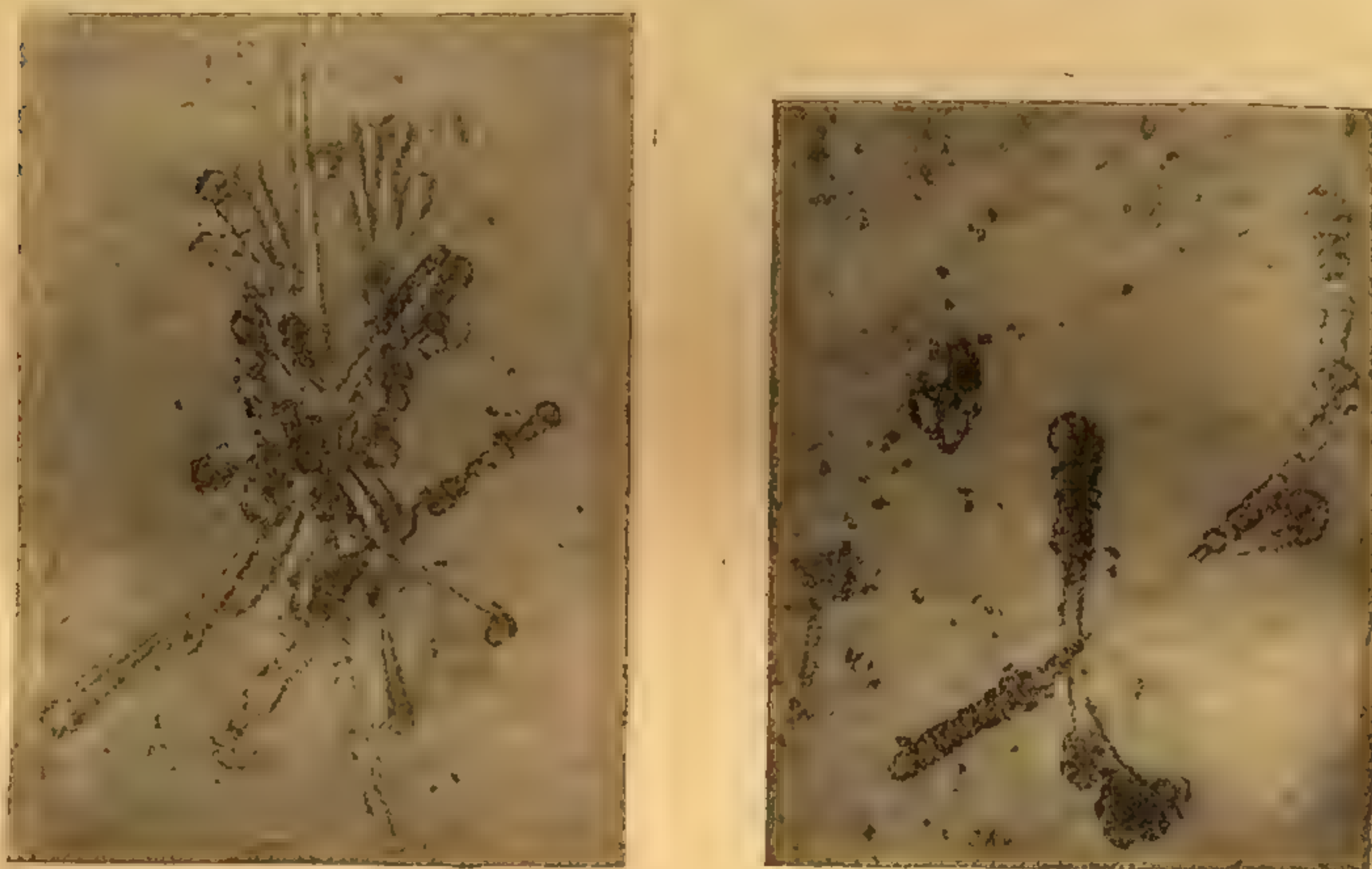


Рис. 99. Асбестовые тельца

как бы из отдельных сегментов, нанизанных на ось; сегменты имеют вид дисков, брусков, иногда же напоминают форму позвонков. Отдельные сегменты прилегают один к другому плоскими сторонами. На свободных сторонах нередко наблюдаются булавовидные или шаровидные утолщения. Если сегменты имеют более или менее округлую форму, то все тельце напоминает нить жемчуга. Иногда видна и центральная ось — так называемый кристалл, представляющий игольчатую пылевую частицу асбеста. Описанные сегменты представляют собой отложения адсорбированных коллоидных веществ белкового характера из тканевой жидкости. Асбестовые тельца обычными красками не красятся, с желтой кровяной солью дают образование берлинской лазури (т. е. окрашиваются в синий цвет, методику см. «Альвеолярные макрофаги»). Реакция эта указывает на присутствие в них железа; чем темнее асбестовое тельце, тем резче получаемая реакция. Железо, по некоторым авторам, представляет собой составную часть вдыхаемой пыли; по другим — оно адсорбировано из кровяного пигмента. Чтобы легче найти асбестовые тельца, можно обработать мокроту антиформинном.

Обработка антиформинном. Берут 1 часть (около 1 столовой ложки) мокроты, 1 часть неразведенного антиформина и взбалтывают



осторожно до полного растворения. Приливают 2 части дистиллированной воды и оставляют в широкой пробирке на 3—4 часа. Сливают большую часть отстоявшейся жидкости, остаток центрифугируют 10—15 минут. Сливают жидкость с осадка нацело, осадок пипеткой переносят на стекло и исследуют под микроскопом. Для растворения мокроты можно также пользоваться раствором едкого натра или соды.

Отыскивают асбестовые тельца со слабой системой, после чего для детального рассмотрения переходят на сильную сухую или иммерсионную систему. Обычно телец очень мало — 1—2 в препарате.

## ЖИВОТНЫЕ ПАЗАРИТЫ

1) **Эхинококк.** О нахождении пузырей эхинококка было упомянуто при макроскопическом описании мокроты. Однако чаще, чем целые пузыри, в мокроте обнаруживают остатки стенок пузыря и крючья эхинококка (рис. 100). Стенки пузыря, в зависимости от его возраста, бывают различной толщины; у молодых особей они совершенно бесцветны и прозрачны, у более старых — изжелта-белого цвета и напоминают фиброзные пленки.

Микроскопическая картина оболочки очень характерна. В тех случаях, когда она тонка и прозрачна, оболочка обнаруживает очень нежную параллельную исчерченность, отдельные линии которой отстоят на различных расстояниях и нередко имеют вид пунктира.

Очень характерен также вид крючьев. Однако они мелкие и бесцветны и отыскать их в гнойной мокроте крайне трудно: нужен просмотр большого числа препаратов. В редких случаях описано нахождение целого сколекса (см. выше «Макроскопическое исследование»). Мокрота при эхинококкозе легкого желтого или коричневатого цвета,



Рис. 101. Легочная дистома — паразит. Натуральная величина.



Рис. 102. Легочная дистома — яйцо в мокроте человека.

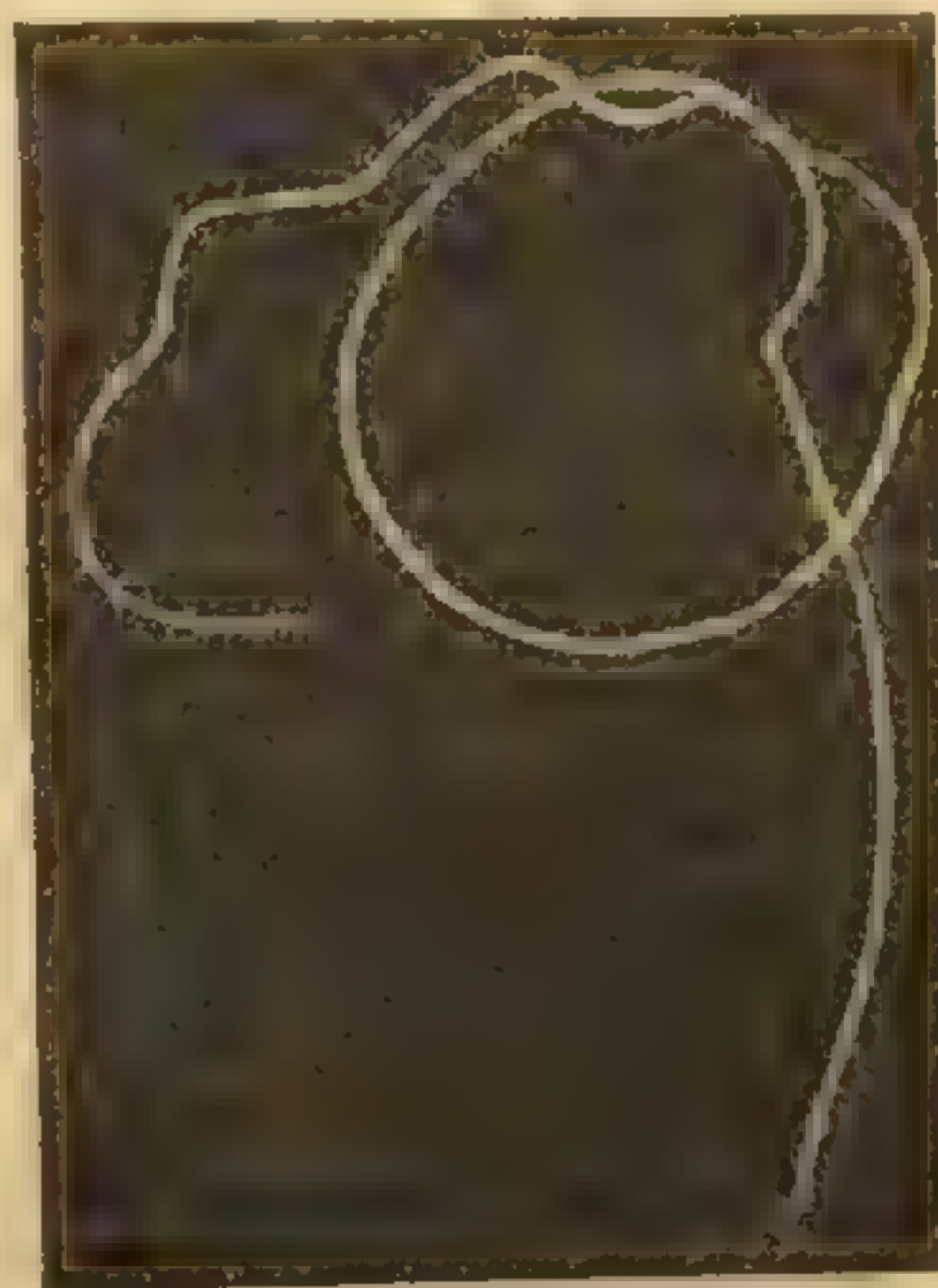


Рис. 103. *Thominx aerophilus* — паразит. Увеличение в 8 раз.

иногда со значительной примесью крови, нередко содержит эозинофилы и кристаллы Шарко-Лейдена.

2) **Легочная дистома** (рис. 101 и 102). Паразит из класса сосальщиков. Зрелый паразит — довольно крупный (7,5—13 мм длины), толстый, яйцевидной формы, с мокротой выделяется редко; чаще с мокротой выделяются яйца. Они овальной формы, несколько заострены, золотистокорич-



невого цвета, снабжены крышечкой; длинник их — 80—118  $\mu$ , поперечник — 48—60  $\mu$ . Вследствие частого проглатывания мокроты, яйца нередко обнаруживаются и в фекальных массах. Диагноз ставится на основании нахождения яиц. Мокрота при скоплении в ней массы яиц приобретает буроватый цвет и обычно содержит довольно значительную примесь крови, кристаллы Шарко-Лейдена и эозинофилы.

Паразит развивается с промежуточным (моллюск) и дополнительным хозяином (краб). Живет в мелких бронхах, образуя кисты в местах паразитирования. Яйца скопляются в кистах и при их разрыве выделяются вместе с мокротой.

Клинически заболевание может симулировать бронхоэктаз и туберкулез, отличаясь от последних в большинстве случаев более доброкачественным течением.

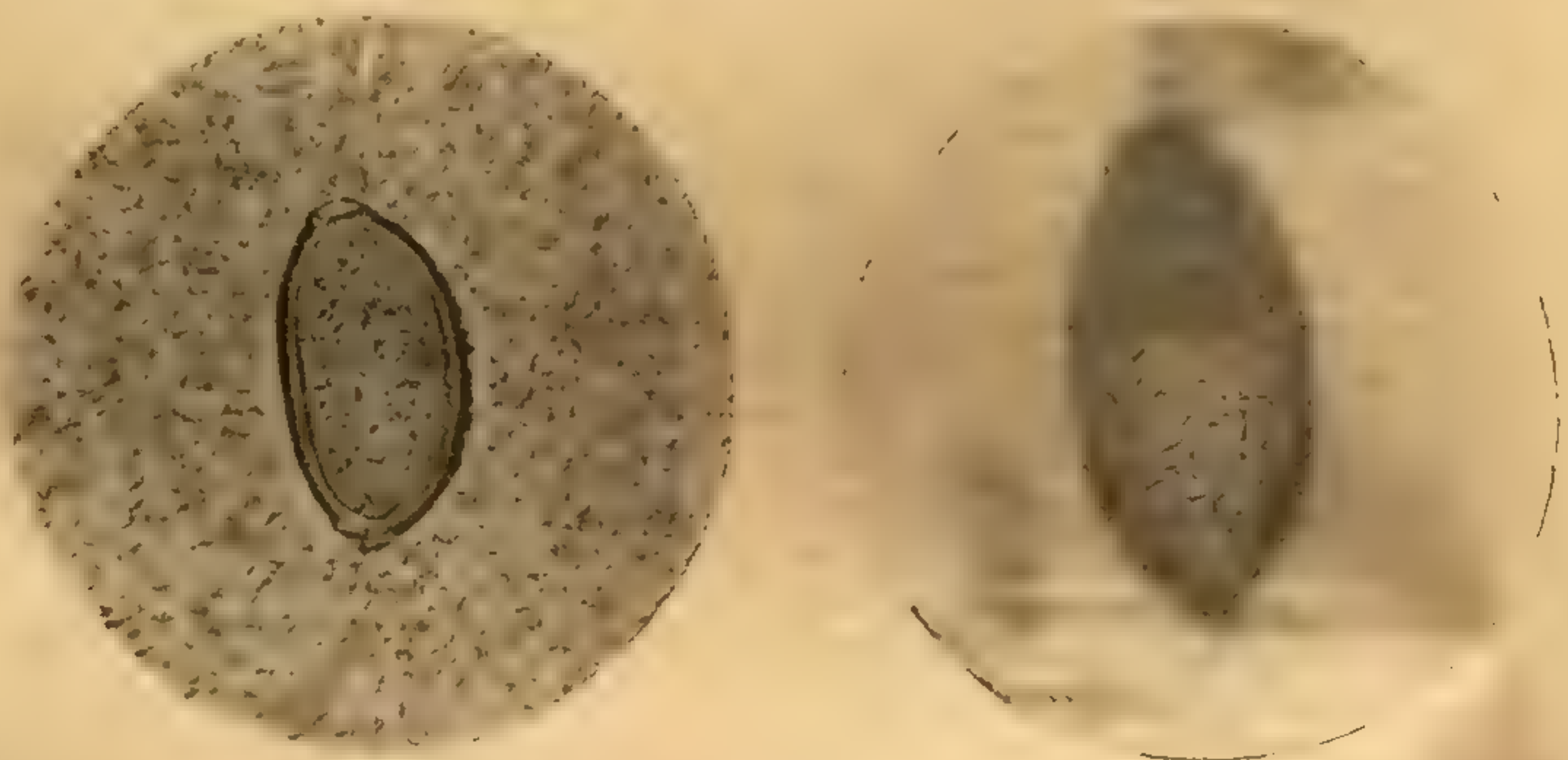


Рис. 104. *Thominx aerophilus*.

Слева — яйцо из мокроты; справа — извилистый рисунок на скорлупе яйца.

Дистоматоз легкого распространен в Китае, Корее, на Формозе, Филиппинских островах и в Индо-Китае; в Европе он представляет большую редкость. В СССР описаны единичные случаи, завезенные из Восточной Азии.

3) *Thominx aerophilus*, s. *Eucoleus aerophilus* (рис. 103 и 104). Легочный паразит, представляющий интерес, поскольку до 1934 г. в мировой литературе не было описания ни одного случая нахождения его у человека. В 1934 г. яйца этого паразита были обнаружены Б. Д. Альперович в мокроте у больного острым трахеобронхитом, сопровождавшимся высокой температурой и выделением большого количества вязкой гнойной мокроты. Почти одновременно ею еще у 2 больных были найдены в мокроте яйца этого паразита<sup>1</sup>. Яйца были идентифицированы Скрыбиным как яйца *Thominx aerophilus*. Паразит гнездится в слизистой оболочке трахеи и бронхов. Яйца с мокротой выбрасываются во внешнюю среду. При проглатывании мокроты они попадают в кишечник и выделяются с фекалиями. В одном из случаев они были обнаружены также в дуоденальном соке. Яйца по форме похожи на яйца власоглава, но несколько длиннее и шире; они асимметричны. Размеры яиц —

<sup>1</sup> Сборник трудов «XX лет работы Лечебно-санитарного управления Крем. я», 1939, стр. 62.



60 — 64 × 29 — 32 микрон. Одна сторона яиц уплощена. Поверхность их покрыта толстой плотной скорлупой, усеянной извилистыми выкрутостями. Скорлупа заметна лишь при очень тщательном микроскопическом изучении.

Зрелый паразит нитевидный; длина самца — 17 — 24 мм, самки — 18 — 24 — 35 мм. Развивается без промежуточного хозяина. Паразит широко распространен у кошки, собаки, волка, лисицы, барсука.

4) **Аскариды.** Известны единичные случаи нахождения личинок аскарид в мокроте. В самоэксперименте после проглатывания яиц аскариды их находили через 9 — 16 дней.

5) **Простейшие.** Присутствие в мокроте простейших особого значения не имеет; повидимому, они поселяются в полостях, имеющих при гангрене, бронхоэктазе, туберкулезных кавернах. В редких случаях простейшие проникают в эти полости из кишечника через печень. Описано два вида амёб: *Entamoeba gingivalis* s. *buccalis* и *Entamoeba pulmonalis*. Возможно, что эти два вида тождественны. Кроме амёб, встречаются также представители жгутиковых (*Trichomonas*) и в редких случаях *Valantidium coli*. Описание простейших — см. «Каловые массы».

## ВОЗБУДИТЕЛИ МИКОТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛЕГКИХ —

см. «Возбудители кожных болезней».

### ГЛАВА ТРЕТЬЯ

## БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

### ТУБЕРКУЛЕЗНАЯ ПАЛОЧКА

(*B. tuberculosis*, s. *Mycobacterium tuberculosis*) (рис. 105, 106 и 107).

Исследование мокроты на присутствие туберкулезных палочек имеет огромное значение, и его нужно производить с особой тщательностью. Для обнаружения туберкулезных палочек часто не ограничиваются исследованием обычных мазков, а применяют различные другие способы: 1) методы обогащения, т. е. предварительную специальную обработку мокроты, имеющую целью концентрировать палочки в небольшом объеме; 2) посев мокроты на специальные питательные среды; 3) прививки животным.

Из этих методов исследование простого окрашенного мазка практически имеет наибольшее значение. Остальные методы являются вспомогательными<sup>1</sup>.

1) **Исследование окрашенных мазков.** В мазках, как правило, можно найти туберкулезную палочку в ее типичной кислото- и спиртоустойчивой форме. Отыскивание кислотонеустойчивых форм в мазках из мокроты практического значения не имеет.

Приготовление мазка было описано выше. Здесь необходимо только добавить, что нельзя ограничиваться исследованием одного мазка, а необходимо просматривать не меньше двух. Кроме того, не ограничиваясь просмотром нескольких полей зрения, необходимо исследовать весь пре-

<sup>1</sup> В последнее время, кроме обычного микроскопирования мазка, применяется исследование мазка с помощью флуоресцентного микроскопа. Согласно Боброву, этот метод дает больше положительных результатов и позволяет более четко наблюдать полиморфизм бактерий («Проблемы туберкулеза», № 1, 1949. Совещание лабораторных работников и микробиологов, стр. 58).



парат. Способов окраски на туберкулезные палочки предложено очень много. Из них самый простой и самый надежный — это способ Циль-Нильсена (см. отдел X, стр. 668).

При этой окраске туберкулезные палочки окрашиваются фуксином в красный цвет; все другие микроорганизмы и морфологические элементы мокроты окрашены в синий цвет. На общем синем фоне красные палочки обыкновенно выделяются настолько рельефно, что легко отыскиваются даже начинающими. Они или разбросаны по препарату единичными экземплярами, или встречаются небольшими кучками. Длина их различна — от 2 до 6  $\mu$ . Большей частью палочки прямые, иногда же они изогнуты, как бы надломлены, иногда состоят из отдельных зерен (рис. 105). Изредка встречаются нитевидные формы с истинными разветвлениями и колбообразно утолщенными концами. Нередко палочки лежат внутри лейкоцитов.

Количество туберкулезных палочек в мокроте различно: в некоторых случаях, просмотрев весь препарат, с трудом удастся найти лишь несколько бацилл, в других они встречаются в каждом поле зрения в большем или меньшем количестве — от 3—4 до 100 и выше; наконец, бывают случаи, когда препарат представляет как бы мазок из чистой культуры туберкулезных палочек. Необходимо подчеркнуть, что количество палочек не может служить критерием тяжести заболевания. Если во всем препарате находят 1—2 бациллы, то исследование необходимо повторить, так как возможно случайное загрязнение.

Помимо окраски по Циль-Нильсену, заслуживают внимания следующие способы окраски: способ Шпенглера — так называемый пикриновый способ, окрашивающий, по свидетельству автора, не только цельные, хорошо сохранившиеся палочки, но и палочки с поврежденными оболочками, обломки палочек. Техника окраски следующая: 1) окраска карболовым фуксином Цили до появления паров; 2) обработка в течение 5—10 секунд пикриновым алкоголем (насыщенный водный раствор пикриновой кислоты пополам с абсолютным алкоголем); 3) обмывание 15% азотной кислотой в течение нескольких секунд; 4) обмывание 60% алкоголем до прекращения отхождения краски; 5) дополнительная окраска пикриновым раствором в течение 1—2 минут. При этой окраске бациллы имеют красный цвет на однородном желтом фоне. Морфологические элементы и другие микроорганизмы не окрашиваются.

Способ Муха, предложенный для окраски кислотонеустойчивых форм, представляет собой видоизмененный способ Грама. Техника окраски: 1) прокрашивание карболовым раствором метилвиолета (10 см<sup>3</sup> насыщенного спиртового раствора метилвиолета, разведенные 100 см<sup>3</sup> 2% карболовой кислоты; раствор фильтруют перед каждым употреблением) в течение 24—48 часов при комнатной температуре или трехкратное кипячение с возобновлением краски после каждого кипячения; 2) обработка раствором Люголя (см. отдел X) в течение 10—15 минут; 3) обработка 5% азотной кислотой — 1 минута; 4) обработка 3% соляной кислотой — 10 секунд; 5) обработка смесью ацетона со спиртом поровну — до полного обесцвечивания; 6) дополнительная окраска 1% водным раствором сафранина в течение нескольких секунд.

При микроскопическом исследовании таких препаратов на красноватом фоне резко выделяются сине-фиолетовые палочки и зерна.

Вейс видоизменил способ Муха в том смысле, что первый момент окраски предложил производить смесью из 3 частей карболового фуксина Цили с одной частью метилвиолета по Муху. В дальнейшем окраска ведется так же, как по Муху. Палочки окрашиваются в красный цвет, зерна — в темнофиолетовый.



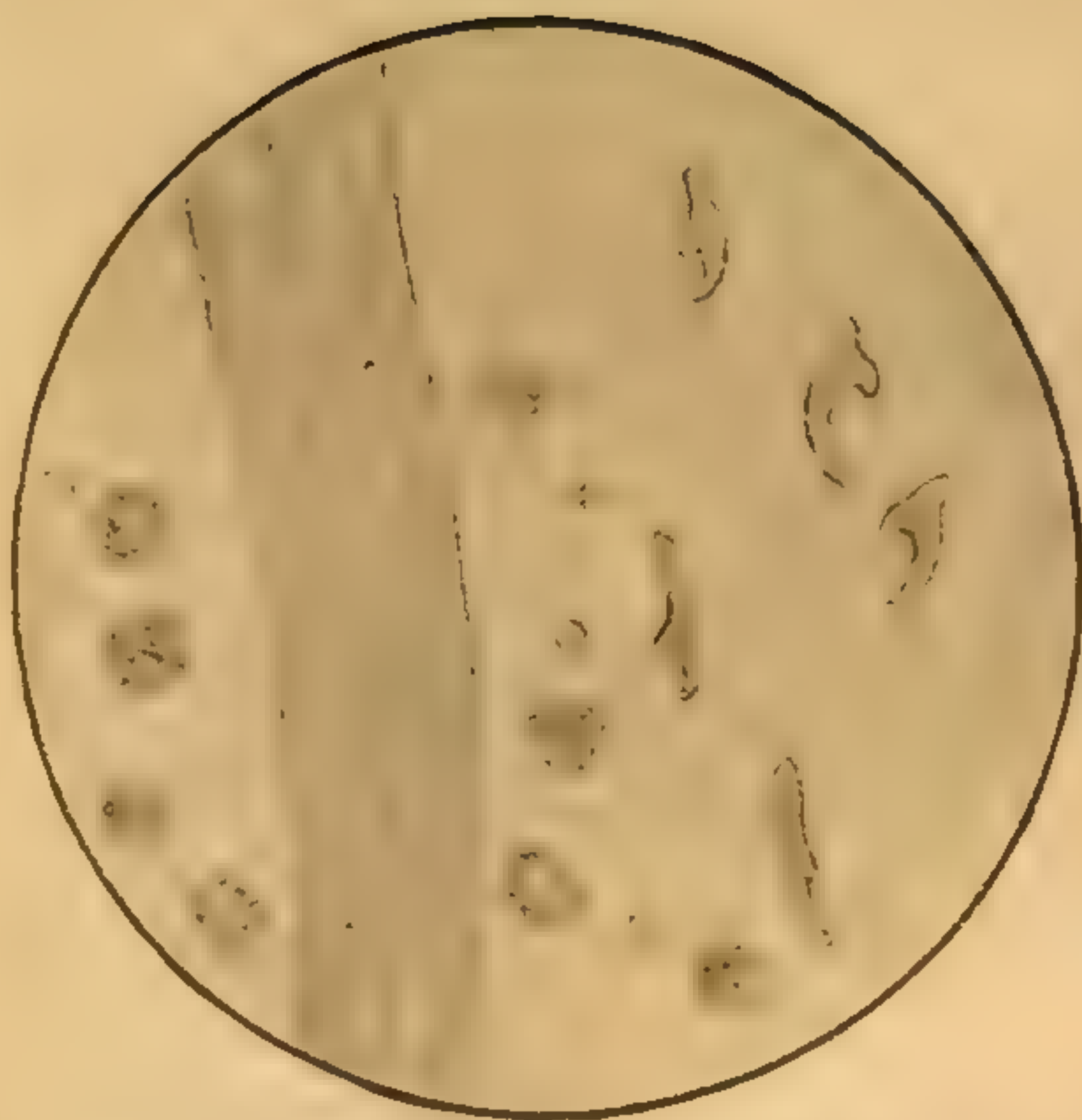


Рис. 100. Эхинококк — обрывок стенки пузыря, крючья, лейкоциты, эритроциты.

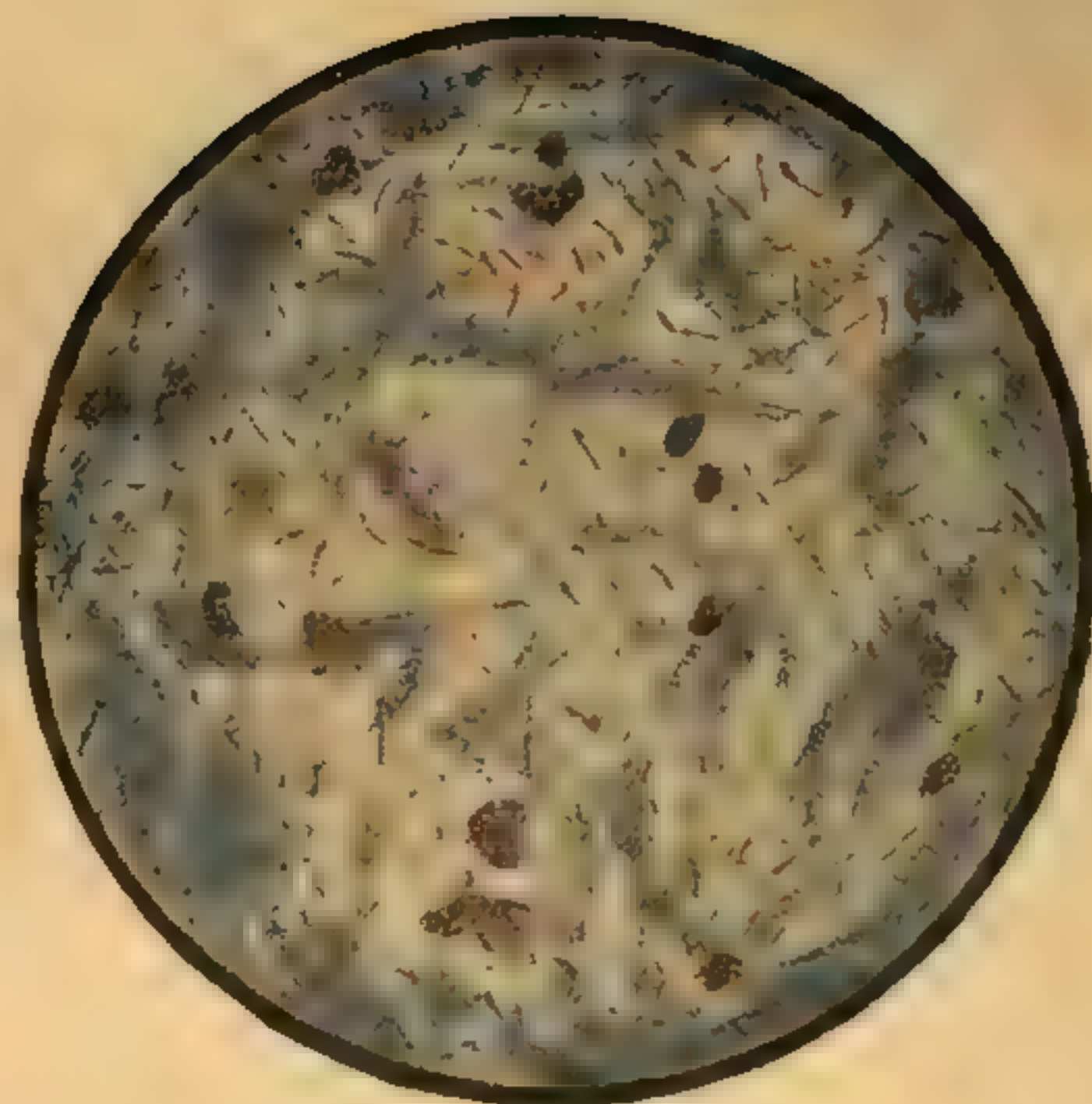


Рис. 105. Туберкулезные бациллы в мокроте — зернистые формы. Окраска по Циль-Нильсену.

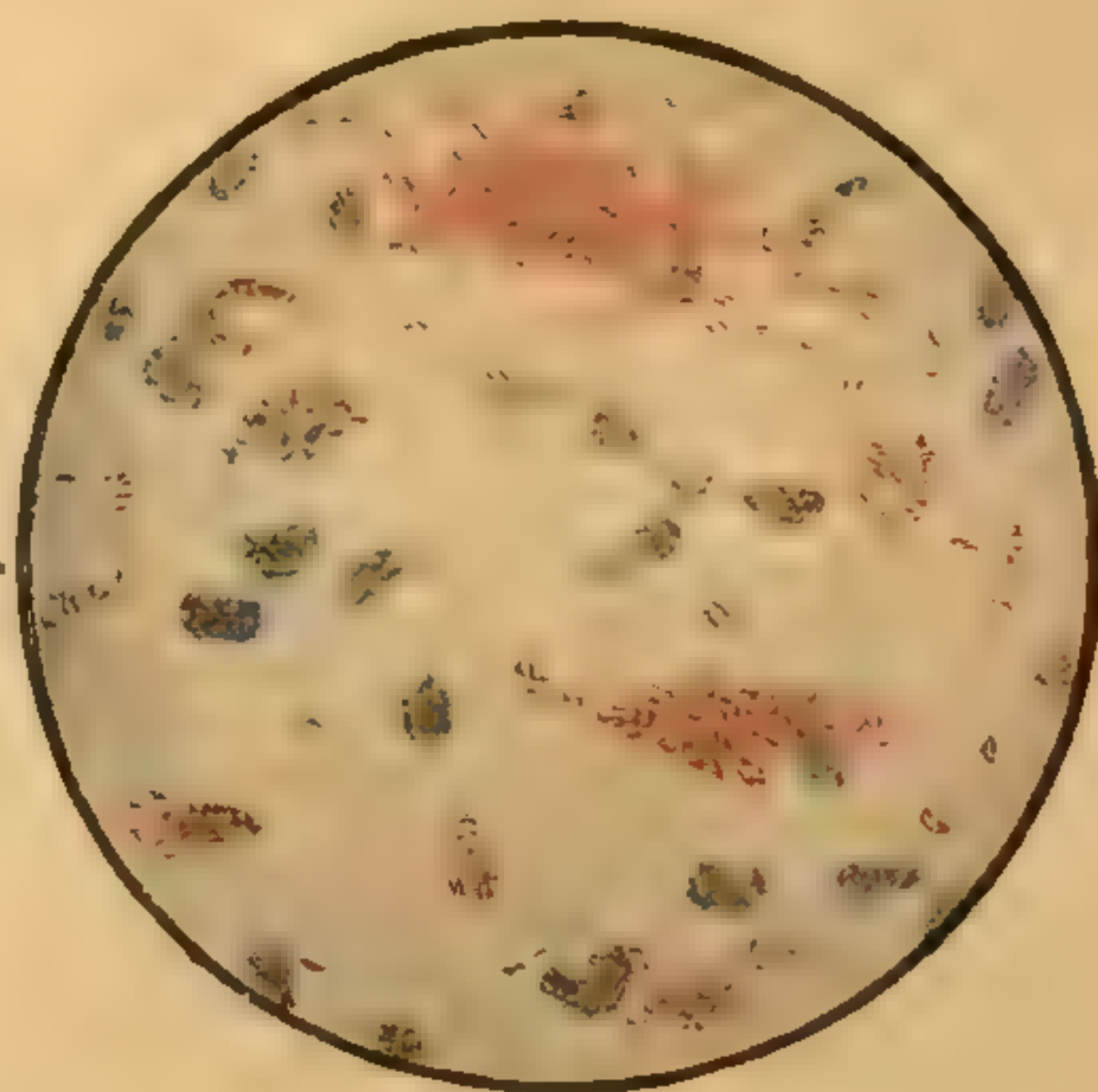


Рис. 106. Туберкулезные бациллы в мокроте из каверн. Гнездное расположение.

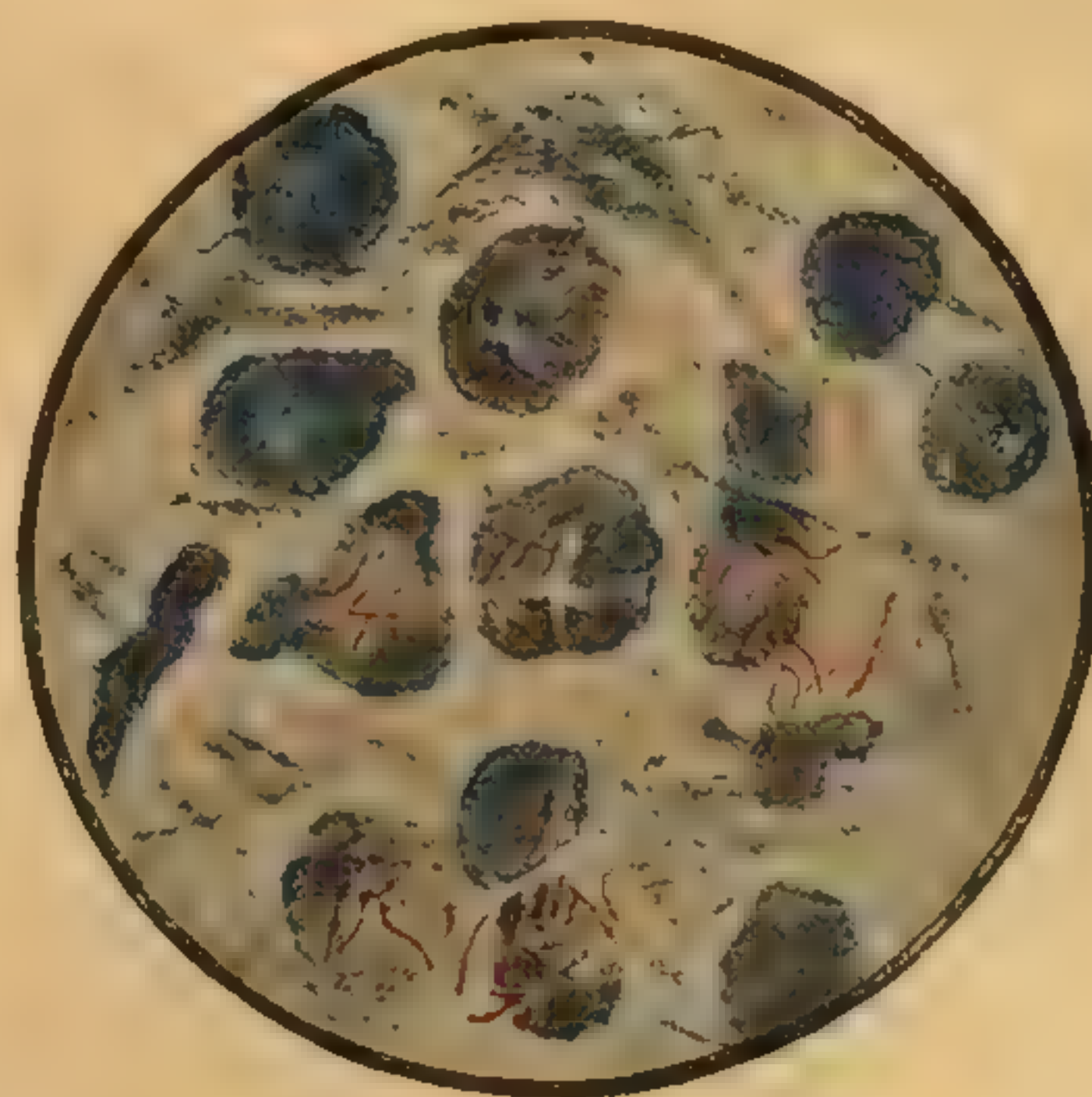


Рис. 107. Туберкулезные бациллы, фагоцитированные нейтрофилами.



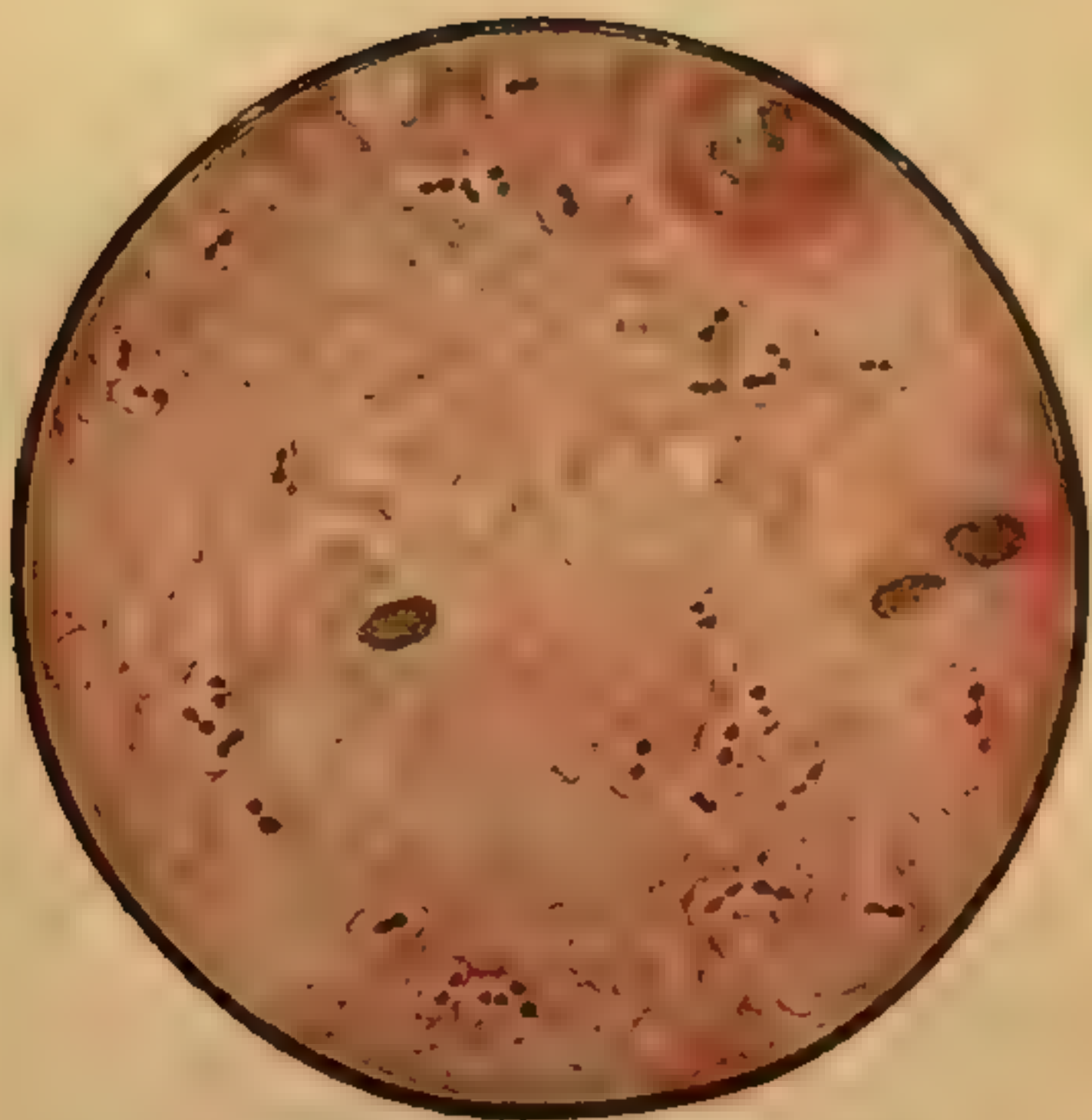


Рис. 108. Пневмококк в мокроте — ясно выраженные капсулы. Окраска по Граму.

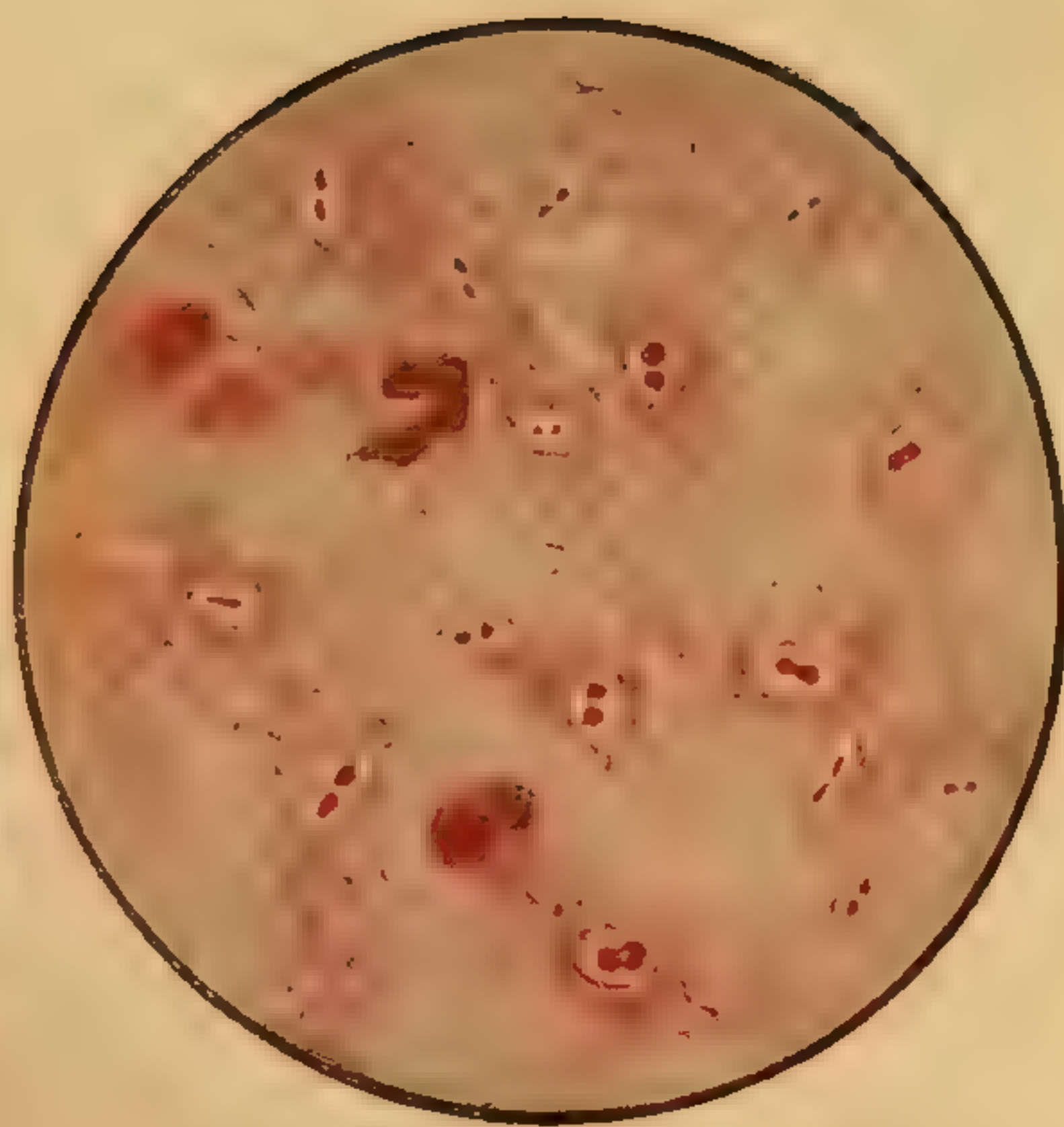


Рис. 109. Диплобациллы Фридлендера в мокроте.



Рис. 110. Палочки инфлюэнцы в мокроте. Окраска фуксином Пфейфера.



Мух считает, что при его способе окрашиваются палочки, потерявшие кислотоустойчивость. Окраска Муха широкого распространения не получила.

Кислотоустойчивость свойственна не только туберкулезной палочке, ею обладают также бациллы проказы, бациллы смегмы и некоторые сапрофиты, содержащиеся в меле, молочных продуктах, траве. Однако в мокроте присутствие кислотоустойчивых палочек, помимо туберкулезных, настолько редко, что не умаляет диагностического значения обычного исследования окрашенного мазка. Нетуберкулезные кислотоустойчивые палочки находят иногда при озене, легочной гангрене, бронхоэктазе. В этих случаях с диагнозом нужно быть очень осторожным. Значительно чаще, чем в мокроте, непатогенные кислотоустойчивые палочки встречаются в моче (палочки смегмы).

Если при окраске мокроты по Циль-Нильсену обнаружены типичные красные палочки на синем фоне, то можно с несомненностью сказать, что данное лицо страдает туберкулезом дыхательных путей. Обнаружение туберкулезных палочек у здоровых, т. е. случаи носительства туберкулезных палочек, принадлежит к большим редкостям, и считаться с ними не приходится.

Далеко не так убедителен отрицательный результат бактериоскопического исследования. В ряде случаев отрицательного результата туберкулезные палочки удается вырастить при посеве их на питательные среды (см. отдел X). Еще больший процент положительных результатов дает прививка животному; этим путем удавалось обнаружить бациллы у туберкулезных больных, в мокроте которых при повторном исследовании палочки не обнаруживались. В клинически подозрительных случаях при отрицательном результате необходимо делать много препаратов из одной и той же мокроты и, кроме того, необходимо повторять исследование несколько дней подряд, а также применять так называемые способы обогащения (см. ниже).

**2) Способы обогащения.** Они применяются, как сказано выше, в подозрительных случаях при отрицательном результате бактериоскопического исследования обычного мазка. Принцип их — гомогенизация мокроты и концентрация туберкулезных палочек в небольшом объеме. Способов описано много.

**а) Способ всплывания (флотации), описанный Потенжером в 1931 г. и признанный лучшим способом.**

Этот способ сводится к следующему: 1) мокроту собирают в течение 1—3 дней и выливают в узкогорлую бутылку емкостью около 200 см<sup>3</sup>; 2) приливают равное количество 0,5% едкого натра, смесь встряхивают в течение 10 минут; 3) ставят на полчаса — час в водяную баню при 55—56°; 4) прибавляют 1—1,5 см<sup>3</sup> ксилола, бензина, толуола и т. п. и дестиллированную воду в таком количестве, чтобы вязкость мокроты была приблизительно равна вязкости воды (обычно доливают воды до 200 см<sup>3</sup>); 5) смесь энергично встряхивают 15—20 минут, после чего оставляют на 1—2 часа при комнатной температуре, для того чтобы слой ксилола (или толуола и т. д.) собрался в горлышке бутылки; 6) отстоявшийся верхний слой снимают пипеткой капля за каплей и наслаивают на предметное стекло, подогретое до 60°; каждая капля подсушивается до нанесения следующей (удобно класть стекло на водяную баню, наполненную водой соответствующей температуры, прикрытую стеклянной пластинкой); 7) высохший препарат промывают эфиром для удаления жиров и остатков ксилола, фиксируют огнем, окрашивают фуксином Циля, обесцвечивают 3% солянокислым алкоголем и докрашивают (по Потенжеру) 1% раствором пикриновой



кислоты. Можно пользоваться и любой другой дополнительной окраской, например, метиленовой синькой.

Ценность этого метода была подтверждена во многих лабораториях, и он вошел в повседневную практику.

б) Способ Каган—обработка содой. В склянку со стеклянными бусами вносят 5—10 см<sup>3</sup> мокроты, приливают равный объем 0,5% раствора углекислой соды. Смесь энергично встряхивают до полной гомогенизации, после чего кипятят 10—15 минут на водяной бане (или ставят в автоклав на 20 минут). Затем склянке дают остыть, сливают гомогенную жидкость в пробирку, центрифугируют на быстроходной центрифуге 5—10 минут. Из осадка готовят препарат в виде толстой капли, высушивают, фиксируют и окрашивают обычным способом. Способ очень простой и дает хорошие результаты.

в) Способ Петрова. Мокроту смешивают с равным объемом 4% раствора едкого натра, тщательно взбалтывают и ставят в термостат при 37° на 15—30 минут, повторно встряхивают и после полной гомогенизации центрифугируют; жидкость сливают, к осадку приливают 2—3 капли нормальной соляной кислоты (точный титр не требуется); из него готовят препараты и окрашивают, как обычно.

г) Способ с антиформинном, в свое время очень распространенный. Мокрота обрабатывается антиформинном, представляющим собой смесь хлориновой извести, соды и едкого натра. Антиформин довольно быстро растворяет форменные элементы мокроты и все бактерии, кроме кислотоустойчивых. Для исследования берут небольшое количество (5—10 см<sup>3</sup>) мокроты, прибавляют, смотря по консистенции, равное или двойное количество 25% антиформина, хорошо взбалтывают и оставляют при комнатной температуре; для ускорения можно ставить в термостат при 37° или в водяную баню при 56°. Обычно полное растворение наступает при 37° через 1½—2 часа, при 56°—через полчаса. Когда мокрота растворилась, приливают 1/3 объема дистиллированной воды, все вместе смешивают и центрифугируют на быстроходной центрифуге 15—20 минут; затем жидкость с осадка сливают, на осадок наливают дистиллированной воды и вновь центрифугируют около 10 минут (чтобы отмыть осадок от щелочи); из осадка готовят препараты, хорошо высушивают, фиксируют и окрашивают по Циль-Нильсену. Если препарат плохо пристает к стеклу, то смачивают стекло тонким слоем исследуемой мокроты.

3) **Исследование мокроты, добытой промыванием желудка.** Исследование желудочного содержимого на присутствие туберкулезных палочек применяется чаще у детей, так как они до известного возраста проглатывают мокроту; реже оно проводится у взрослых (ослабленных или тяжело больных). Желудочное содержимое выкачивают либо натошак, либо после промывания желудка 100—200 см<sup>3</sup> воды, слегка подщелоченной двууглекислым натрием. Добытое содержимое центрифугируют, сливая по несколько раз в ту же центрифужку, и исследуют осадок бактериоскопически на обычных мазках. При отрицательном результате осадок или промывные воды обрабатывают методом флотации<sup>1</sup>. Можно также делать посевы и инокуляцию материала животному.

4) **Исследование слизи из гортани.** Способ также применяется, когда больной не выделяет мокроты. Материал добывается следующим образом: вводят гортанное зеркало, держат его горизонтально над гортанью и заставляют больного кашлять. Из капель, попадающих на зеркало, делают мазки, фиксируют и окрашивают их, как обычно.

<sup>1</sup> Обработку нужно обязательно делать в тот же день.



## ЛУЧИСТЫЙ ГРИБОК (*Actinomyces*) —

см. „Возбудители кожных болезней“.

## ПНЕВМОКОКК (ДИПЛОКОКК ФРЕНКЕЛЯ)

(*Pneumococcus*)

1) **Этиологическое значение пневмококка.** Роль пневмококка как возбудителя крупозной пневмонии была доказана Френкелем, описавшим его морфологию и доказавшим его патогенность для животных. В дальнейшем выяснилось, что аналогичная картина болезни, т. е. картина лobarной пневмонии, может быть вызвана рядом других микроорганизмов — стрептококком, диплобациллой Фридлендера и даже туберкулезной палочкой; пневмококк в свою очередь может быть возбудителем и бронхопневмоний, т. е. пневмоний лобулярных, некрупозного характера. Вместе с тем первенствующая этиологическая роль в заболевании крупозной пневмонией все же признается за пневмококком.

2) **Морфология.** Пневмококк (рис. 108) — маленький диплококк ланцетовидной формы. Два кокка, из которых он состоит, обращены друг к другу тупыми концами, тогда как свободные концы их заострены или вытянуты в виде пламени свечи. Последнее сравнение очень верно определяет встречающиеся иногда формы. Диплококки могут также образовывать короткие цепочки, отдельные членики которых сохраняют ланцетовидную форму. Иногда встречаются диплококки, состоящие из двух правильно овальных или даже круглых кокков. При благоприятных условиях наблюдается образование капсулы, которая, как футляр, окружает каждую пару кокков. По наблюдениям некоторых авторов, эта капсула яснее выражена в начальной стадии заболевания.

Пневмококк неподвижен; к окраске по Граму относится положительно. Последним свойством пневмококка пользуются для нахождения его в мокроте. Приготавливают препарат обычным способом. Из мокроты нужно выбирать ржавые или гнойные комочки и с ними проделывать то же самое, что с туберкулезной мокротой, т. е. так же размазывать, высушивать и фиксировать. Мазок непременно должен быть тонким, так как в толстых мазках окраска по Граму трудно удается. Способ окраски по Граму — см. отдел X, стр. 668. При этом способе все клеточные элементы мокроты спиртом обесцвечиваются и окрашиваются дополнительной краской в розовый цвет, за исключением пневмококка и некоторых других бактерий, которые окрашиваются в темнофиолетовый цвет, а потому и выступают резко и отчетливо на общем розовом фоне; нередко бывают видны даже капсулы. Окраску капсул — см. отдел X, стр. 669.

В типичных случаях крупозной пневмонии пневмококк может встречаться в мокроте почти как в чистой культуре. Однако это далеко не всегда так; бывают случаи, когда, наряду с ним, имеется довольно значительное количество других микроорганизмов. Пневмококк может встречаться в больших количествах в мокроте и при других заболеваниях, например, при различных бронхитах, туберкулезе. Таким образом, даже присутствие большого количества пневмококков в мокроте решает диагноз только в связи с клинической картиной и типичным для крупозной пневмонии характером мокроты. Характер мокроты см. ниже.



## ПНЕВМОБАЦИЛЛА ФРИДЛЕНДЕРА

(*B. Friedländeri*, s. *Klebsiella pneumoniae*)

Пневмобациллы (диплобациллы) Фридлендера (рис. 109)—короткие палочки, соединенные по две и окруженные капсулой, как пневмококк. Капсула имеет слизистую консистенцию. Пневмобацилла Фридлендера в отличие от пневмококка грамотрицательна, т. е. при окраске по Граму представляется окрашенной не в цвет генцианвиолета, а в дополнительный цвет. Встречается при различных заболеваниях ротовой полости и дыхательных путей, но наибольший интерес представляет ее нахождение в мокроте пневмоников, так как картина болезни, вызываемая этой диплобациллой, сходна с картиной крупозной пневмонии. Мокрота, однако, не имеет специфического характера; чаще всего она слизисто-гнойная, иногда содержит примесь крови.

## ПАЛОЧКА ИНФЛЮЭНЦЫ

(*B. influenzae*, s. *Haemophilus influenzae*)

1) **Этиологическое значение.** Исследованиями последнего времени установлено, что эпидемический грипп представляет вирусное заболевание. Палочка инфлюэнцы, не являясь возбудителем гриппа, играет все же определенную роль при этом заболевании. Ее присутствием объясняются различные осложнения, а по данным некоторых авторов, она своим одновременным влиянием повышает патогенность гриппозного вируса.

2) **Морфология.** Палочка инфлюэнцы (рис. 110) представляет собой очень мелкую палочку; это один из самых мелких микроорганизмов, какие известны в бактериологии; длина ее 0,2—0,5  $\mu$ , концы закруглены. Палочка неподвижна. Окрашивается всеми анилиновыми красками, лучше всего разведенным фуксином Циля; по Граму она обесцвечивается. Растет исключительно на средах, содержащих гемоглобин, т. е. принадлежит к гемоглобинофильным бактериям.

3) **Исследование мокроты.** Мокрота при гриппозной пневмонии имеет обычно слизисто-гнойный характер, однако в очень тяжелых случаях она может становиться более жидкой, пенистой, содержать значительную примесь крови и по своему характеру напоминать мокроту при легочной чуме.

Для исследования нужно брать только свежую мокроту, так как при стоянии палочки сравнительно быстро исчезают. Сделав тонкий мазок, фиксируют его обычным способом и окрашивают разведенным фуксином 5—10 минут.

При микроскопическом исследовании таких препаратов обнаруживаются палочки, расположенные в виде тяжей или кучек большей или меньшей величины; иногда они бывают разбросаны по всему препарату среди большого количества других разнообразных бактерий — стрептококков, стафилококков и т. д. В некоторых случаях в мокроте находят почти чистую культуру палочек инфлюэнцы. В первые дни болезни палочки лежат в слизистой основе мокроты, в последующие они часто бывают фагоцитированы лейкоцитами. Окрашены они обычно бледнее кокков и палочек кишечной группы; нередко наблюдается полюсная окраска. Для распознавания необходимо окрашивать параллельно два препарата — один разведенным фуксином, другой по Граму, чтобы убедиться, что палочки по Граму обесцвечиваются.



## ДРУГИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ, ВСТРЕЧАЮЩИЕСЯ В МОКРОТЕ

Часто при осложнениях, особенно гнилостном поражении легких, в мокроте находят много различных сапрофитных микроорганизмов. Из патогенных микроорганизмов, сопутствующих ряду заболеваний, следует упомянуть следующие.

1) **Стрептококк.** Подразделение стрептококков — см. отдел X, стр. 673.

2) **Стафилококк.** Стафилококк, чаще всего золотистожелтый гное-родный (стр. 677), встречается повсюду: в полости рта, носа, зева, а также в мокроте при ряде заболеваний дыхательных путей, чаще всего вместе со стрептококком и пневмококком, являясь обычно выражением смешанной инфекции.

3) **Катарральный микрококк** (*Micrococcus catarrhalis*, s. *Neisseria catarrhalis*). Катарральный микрококк очень сходен с менингококком. Как и менингококк, он имеет форму диплококка с уплощенными или слегка вогнутыми соприкасающимися краями. В острых случаях кокки лежат в большом количестве в вязкой слизи между клетками, к концу болезни они располагаются внутри клеток. Как и менингококк, катарральный микрококк по Граму обесцвечивается.

У человека его находили при бронхите, гриппе, коклюше, лобулярной и даже лobarной пневмонии. Но в большинстве заболеваний катарральный микрококк встречается в симбиозе с другими микроорганизмами, чаще с пневмококком и палочкой инфлюэнцы; приписывать нахождению его диагностическое значение нужно с большой осторожностью. Для выяснения его значения как возбудителя болезни необходимы дальнейшие исследования.

4) ***Micrococcus tetragenus*.** Найден впервые Кохом в туберкулезной каверне; встречается при гнилостных бронхитах, бронхоэктазах и т. д. Характерной особенностью его является группирование по 4 кокка, окруженных общей капсулой. По Граму он не обесцвечивается.

5) **Палочка дифтерии.** Палочки дифтерии находят в мокроте чаще всего при дифтеритическом поражении зева или носа; однако известны случаи, когда они месяцами и даже годами обнаруживались в мокроте, не являясь возбудителями заболевания легких. Чаще такие случаи наблюдаются после перенесенной дифтерии зева, но они могут иметь место и без предшествующего заболевания зева. Их находили при бронхитах, пневмониях, туберкулезе, бронхоэктазах; при этом они могут быть как вирулентными, так и авирулентными.

6) **Спирохеты.** Наряду со *Spirochaeta buccalis* и *Spirochaeta dentium*, обычно сапрофитирующими в полости рта, различного рода спирохеты могут встречаться в мокроте и при патологических процессах. Из них заслуживают упоминания:

а) *Spirochaeta vincentii* (*Borrelia vincentii*), которой обычно сопутствует веретенообразная палочка — возбудитель так называемой ангины Plaut-Vincenti; ее находили в мокроте как при упомянутых ангинах, так и при заболеваниях легкого — гангрене, новообразованиях, туберкулезных кавернах и бронхоэктазах. Спирохеты эти не являются возбудителями; возможно все же, что в этих случаях имеется смешанная инфекция.

б) Среди спирохет особое место занимает *Spirochaeta castellani*. Кастеллани описал в 1901 г. особый вид спирохеты, названной впоследствии его именем, которую он обнаружил на острове Цейлон. Он находил ее в больших количествах в мокроте больных, страдавших бронхитом с выделением желатинозной, гнойной или же кровянистой мокроты. Спирохета эта полиморфна. Кастеллани различает четыре формы: 1) очень толстые



длинные особи с неправильными завитками и заостренными концами; 2) особи, сходные со *Spirochaeta perfringens*, т. е. умеренной длины, с крупными волнообразными завитками; 3) очень тонкие, с правильными завитками и 4) такие же, только еще меньшей величины. Впоследствии аналогичные находки были обнаружены в Швейцарии и других странах Западной Европы. Однако морфология спирохеты недостаточно типична, чтобы ее можно было отличить от других спирохет, встречающихся в мокроте, и вопрос о специфической роли ее в настоящее время нельзя считать решенным.

в) В исключительных случаях в мокроте описано присутствие *Spirochaeta s. Leptospira icterohaemorrhagiae* у больных болезнью Вейля. Спирохеты эти одновременно обнаруживаются в моче больных. Они также полиморфны — встречаются тонкие, длинные, с 8—15 завитками и более толстые, с 2—4 завитками. Тонкие спирохеты в темном поле зрения обнаруживают очень слабую подвижность, большей частью они делают только вращательное движение на месте.

#### ГЛАВА ЧЕТВЕРТАЯ

### МОКРОТА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

1) **Острый бронхит.** В начале заболевания выделяется скудное количество слизистой, вязкой мокроты, содержащей немного клеточных элементов и нередко кровяные жилки. В дальнейшем количество мокроты становится обильнее и она приобретает слизисто-гнойный характер.

2) **Хронический бронхит.** Мокрота обычно обильна, слизисто-гнойного характера, содержит большое количество лейкоцитов, часто дегенерированных, и нередко кровяные жилки. Клеток цилиндрического эпителия мало. Много разнообразных микроорганизмов. При фибринозном бронхите встречаются фибриновые свертки.

При хроническом бронхите с длительным застоем в малом кругу мокрота может иметь ржавый цвет, благодаря присутствию большого количества клеток сердечных пороков.

3) **Бронхоэктаз.** Мокрота очень обильная (до 1 л в сутки), гнойного характера, менее вязкая, чем при хроническом бронхите, зеленоватая или сероватая. При стоянии делится на три слоя: верхний — бесцветный пенный, средний — мутный слизисто-серозный, нижний — гнойный, с крупным зернистым распадом, содержит лейкоциты, клетки бронхиального эпителия, кристаллы жирных кислот, много микроорганизмов и иногда кристаллы гематоидина. Нередки небольшие кровохаркания. Эластических волокон, в отличие от абсцесса и гангрены легкого, не содержит.

4) **Бронхиальная астма.** Во время приступа выделяется скудное количество очень вязкой, слизистой стекловидной мокроты. Характерно присутствие спиралей Куршмана, клеток цилиндрического (бронхиального) эпителия, кристаллов Шарко-Лейдена (преимущественно в постоявшей мокроте) и особенно эозинофилов, которые являются наиболее постоянным симптомом.

5) **Бронхопневмония.** Мокрота содержит эритроциты, клетки цилиндрического эпителия, а в некоторых случаях много клеток альвеолярного эпителия и обильное количество микроорганизмов. Характер мокроты меняется в зависимости от вида возбудителя. Нередко она является осложнением тяжелого бронхита: при этом мокрота из слизисто-гнойной становится вязкой, слизистой, окрашенной кровяным пигментом; однако ржавый цвет, характерный для крупозной пневмонии, наблюдается редко.



6) **Крупозная пневмония.** В ранней стадии мокрота скудная, очень вязкая, ржавого цвета, содержит эритроциты, измененный кровяной пигмент, лейкоциты, нередко мелкие фибриновые свертки и много пневмококков. В период разрешения мокрота становится обильнее, приобретает слизисто-гнойный характер, ржавый цвет ее исчезает.

Если пневмония развивается на фоне хронического бронхита, то она с самого начала имеет слизисто-гнойный характер и может не иметь ржавого цвета.

7) **Туберкулез легкого.** В начальной стадии мокроты мало, она слизистая, вязкая, с примесью отдельных гнойных комочков; туберкулезных бацилл может не содержать. Постепенно она становится обильнее, приобретает слизисто-гнойный характер, нередко содержит примесь крови и, как правило, большее или меньшее количество туберкулезных бацилл, в поздних стадиях — эластические волокна и чечевички. При раскрытии старого казеозно-известкового очага наблюдается так называемая тетрада Эрлиха (стр. 287).

У детей взамен мокроты приходится исследовать желудочное содержимое, так как они обычно мокроту проглатывают.

8) **Абсцесс легкого.** Характерно внезапное откашливание большого количества зловонного гноя, содержащего разнообразные микроорганизмы и эластические волокна, нередко обрывки легочной ткани.

Аналогичное явление наблюдается при прорыве эмпиемы в легкое.

9) **Гангрена легкого.** Мокрота обильная, жидкая, серовато-коричневого цвета, с резким гнилостным запахом. При стоянии делится на три слоя: верхний — пенистая слизь, средний — серозный, нижний — коричневатого цвета, состоящий из гноя, детрита и кровяного пигмента. Содержит эластические волокна и много разнообразных микроорганизмов. Клеточные элементы — нейтрофильные лейкоциты в состоянии распада.

10) **Актиномикоз легкого.** Мокрота слизисто-гнойная или пенисто-гнойная, нередко с примесью крови. Характерно содержание мелких желтоватых зерен, видимых макроскопически, представляющих друзы лучистого грибка. Зерна иногда содержатся в нижнем слое трехслойной мокроты. При микроскопическом исследовании обращает на себя внимание большое содержание жировых шаров.

11) **Злокачественные новообразования** — см. отдел IX.



## ОТДЕЛ ЧЕТВЕРТЫЙ

### МОЧА

#### ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ К ИССЛЕДОВАНИЮ МОЧИ

Исследование мочи не только дает указания на то или иное состояние и функцию почек, но и позволяет судить о наличии поражения ряда других органов и систем (болезни печени, расстройства обмена и т. д.); поэтому оно входит как важная составная часть в общее обследование каждого вновь поступающего на лечение больного. Первое исследование должно охватывать все наиболее важные составные части мочи. В то же время в лабораториях закрытого типа (в больницах и клиниках), находящихся в постоянном контакте с лечащими врачами и обслуживающих стационарных больных, моча которых может быть без труда в любой момент вновь направлена в лабораторию, объем работы, по крайней мере в отношении повторных исследований мочи одного и того же больного, может быть значительно сокращен. Нет необходимости, например, повторять полное исследование мочи ежедневно или даже на двух порциях в сутки у почечного больного или у диабетика. Вместе с тем подобное ограничение работы может дать заметную экономию времени лаборанта, реактивов и посуды и иметь, следовательно, несомненное рационализаторское значение. Кроме того, при такого рода специализированных исследованиях внимание лаборанта заостряется на данном вопросе, что нередко благоприятно отражается на результатах его работы.

Для первого исследования мочи пользуются утренней порцией как наиболее концентрированной. В дальнейшем у почечных и сердечных больных, не лежащих в постели и не соблюдающих определенного режима, имеет смысл исследовать отдельно утреннюю и вечернюю мочу; если требуется также определение суточного выделения белка, то мочу хранят на холоду с каким-либо дезинфицирующим средством (см. ниже). У диабетиков для регулирования диеты, инсулинотерапии и т. д. требуются сведения не о процентном содержании сахара, а о его суточном выделении; поэтому исследованию подвергается тщательно собранная суточная моча, количество которой измеряют. Мочу предохраняют от роста микроорганизмов. Исследования на уробилин и на другие пигменты всегда делают в утренней моче. Иногда представляет интерес исследование мочи после физической нагрузки.

Вопрос о целесообразных способах хранения мочи представляет большие трудности ввиду разнообразия физических, химических, морфологических и бактериологических исследований, которые производятся с мочой. Самым простым способом предохранения мочи от загнивания является хранение ее на холоду (однако без замораживания); но это не всегда и не везде возможно, а иногда и не полностью предохраняет от всех нежелательных для дальнейшего исследования процессов. Поэтому широким распространением пользуется прибавление различных химикалий. Однако



некоторые из них изменяют цвет и степень кислотности мочи и отражаются на различных реакциях; поэтому прибавление их должно быть оговорено в сопроводительной записке. Если требуется бактериологическое исследование мочи, то прибавление каких-либо химикалий недопустимо. Далее, при выборе их следует по возможности сообразоваться с основной задачей исследования. Хлороформ, например, падает на дно и мешает изучению осадка, а также восстанавливает медь и затемняет тем самым результат определения сахара. Тимол в количестве 0,1 г на 100 см<sup>3</sup> мочи не обладает такими отрицательными качествами и вместе с тем сохраняет мочу на несколько дней; но, прибавленный в большом количестве, он может помешать кальциевой реакции на белок и реакции на индикан. Прибавление борной кислоты отражается на определении сахара. Формальдегид в количестве 2—3 капель очень удобен для изучения осадка, но в большом количестве сам дает осадок и, кроме того, мешает определению белка, сахара и индикана. Карболовая кислота мешает определению ацетона. Самое удобное средство для широкого применения — толуол, прибавленный в таком количестве, чтобы на всей поверхности мочи плавал тонкий слой его.

## ГЛАВА ПЕРВАЯ

# ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОЧИ

## КОЛИЧЕСТВО

Суточное количество мочи, выделяемое взрослым человеком, в среднем равно 1500 см<sup>3</sup>. Количество мочи увеличивается при обильном введении жидкости и уменьшается в обратном случае, а также при поносах и при обильном потении. При патологических условиях оно может сильно падать.

Обычно ночью мочи выделяется меньше, чем днем, но в некоторых случаях наблюдается обратное соотношение. Ночная полиурия (никтурия) встречается при расстройстве сердечной компенсации, у гипертоников даже при удовлетворительной работе сердца, при остром нефрите и других поражениях почек.

## УДЕЛЬНЫЙ ВЕС

Для определения удельного веса мочи можно пользоваться ареометрами. Это стеклянный полый цилиндр, книзу резко суживающийся, а затем переходящий в шарик, обычно наполненный ртутью (форма иногда бывает несколько иной). Кверху цилиндр тоже резко суживается и переходит в тонкий стержень, на котором нанесены цифры (шкала). Если ареометр опустить в жидкость, он погружается в нее до какой-либо цифры на стержне. Эта цифра и выражает величину удельного веса испытуемой жидкости. Желательно, чтобы в ареометр был включен и термометр. Шкала его обычно помещена на цилиндрической части прибора. Для исследования мочи изготовляют ареометры малого размера, чтобы можно было ограничиваться небольшим количеством мочи; их называют урометрами. Обычно их имеется два: один для более низкого удельного веса, с цифрами от 1000 до 1025 или 1030, а второй для концентрированной мочи, с удельным весом от 1025 или 1030 до 1060. Начинают с первого урометра. Если он погружается очень мало, так что стержень с цифрами,



а иногда даже и часть цилиндра оказывается вне жидкости, то вынимают этот урометр и берут второй.

**Ход определения.** Мочу наливают в цилиндр; диаметр цилиндра должен быть по крайней мере на 1 см шире цилиндрической части урометра, иначе последний будет плохо погружаться и касаться стенок; в результате исследование будет неточным. Мочу наливают по стенке цилиндра так, чтобы не образовалось пены; если это не удалось, то пену снимают полоской фильтровальной бумаги, иначе она помешает точно определить уровень погружения стержня. Урометр надо погружать медленно, чтобы часть его, находящаяся выше уровня мочи, оставалась несмоченной; только когда урометр уже перестал погружаться, надо слегка толкнуть его сверху, иначе он опустится меньше, чем следует. После толчка урометр делает несколько небольших движений вверх и вниз и опять останавливается. Тогда можно отметить цифру на шкале, до которой он погрузился. Самое отсчитывание производят, держа цилиндр так, чтобы верхний уровень жидкости приходился на уровне глаза, притом берут ту черту на стержне урометра, которая соответствует так называемому нижнему мениску жидкости, т. е. нижнему краю выпуклой книзу полоски, образуемой свободной поверхностью жидкости.

При определении удельного веса мочи вес воды обычно принимается за 1000; удельный вес мочи выражается при нормальных условиях величинами от 1010 до 1025 и выше. На удельном весе отражается температура мочи. Показания урометра рассчитаны на температуру мочи в 15°. Если почему-либо нет возможности предоставить моче принять эту температуру, то если требуется подобная точность, приходится вносить поправку: колебания в пределах 3° в ту или другую сторону не имеют значения, но при больших отклонениях прибавляют 1 на каждые 3° более высокой температуры и вычитают 1 на каждые 3° более низкой температуры мочи.

Наличие белка отражается на удельном весе мочи, только если его количество превышает 6—7‰; в таком случае на каждый 1‰ надо вычесть из удельного веса 0,26. О сахаре см. ниже.

**Диагностическое значение.** Поскольку удельный вес тесно связан с величиной диуреза, однократное измерение его без сведений о пищевом и питьевом режиме не может иметь диагностического значения. Очень высокий или очень низкий удельный вес требует выяснения причины, его обусловившей.

Повышение удельного веса мочи обычно является прежде всего следствием уменьшения ее количества и поэтому наблюдается при всех состояниях, сопровождающихся либо малым введением жидкости, либо обильной потерей ее, например, при сильном потении, рвоте, поносе. Несоответствие между удельным весом, достигающим высоких цифр, и количеством мочи, обычно увеличенным, наблюдается только при сахарной болезни; окраска мочи при этом бледная. Уже одной этой комбинации — бледной окраски мочи при высоком удельном весе — достаточно, чтобы с большей степенью уверенности предположить в моче сахар. Однако не следует думать, что сахар бывает лишь при высоком удельном весе мочи, и давать отрицательный ответ только на том основании, что удельный вес ниже 1020: небольшое количество сахара может быть обнаружено и при удельном весе 1008—1012. При однообразном общем пищевом и питьевом режиме, следовательно, при одинаковом количестве мочи и приблизительно равномерном выделении шлаков (но только при этих условиях!) удельный вес может грубо ориентировать в нарастании или уменьшении гликозурии.



Уменьшение удельного веса наблюдается при всех патологических состояниях, сопровождающихся полиурией, и особенно характерно для несахарного мочеизнурения. Низкий удельный вес при малом количестве мочи наблюдается при тяжелых расстройствах функции почек и является плохим прогностическим признаком.

Большое значение определение удельного веса мочи получило только при заболеваниях почек; но и в этих случаях диагностические заключения из получаемых данных можно делать, лишь сопоставляя их с другими свойствами мочи, давностью заболевания и клинической картиной. В начале острого гломерулонефрита удельный вес может быть высоким — 1025 — 1030; чем ниже удельный вес, особенно при малом количестве мочи, тем серьезнее надо оценивать состояние больного. Однако высокий удельный вес при этом заболевании не всегда говорит о хорошей концентрационной способности почек по отношению ко всем выделяемым ею веществам; так, например, концентрационная способность почек по отношению к поваренной соли может оказаться пониженной и при высоком удельном весе (парциальные функции почки). При тяжелых поражениях почек может наблюдаться такое состояние, когда, несмотря на обильное питье или, наоборот, воздержание от жидкости, удельный вес упорно держится около 1010. Эта величина, как известно, соответствует удельному весу сыворотки крови, и упорное сохранение этого удельного веса мочи при условиях, которые обычно ведут к резким колебаниям его (потение, рвота, понос, обильное питье), свидетельствует о потере почками способности совершать осмотическую работу; такое состояние почек носит название изостенурии или (в более слабых степенях) гипостенурии. Если у почечного больного в течение дня удельный вес несколько раз поднимается выше 1020, то можно с большой степенью уверенности исключить тяжелую недостаточность почек; имеется в худшем случае только легкое расстройство их функции. На этой способности нормальной почки совершать большую осмотическую работу основан способ изучения ее функциональной способности посредством водной нагрузки и сухоядения (см. «Функциональное исследование почек»).

При тяжелых степенях почечной недостаточности наблюдается вновь некоторое повышение удельного веса при сохранении изостенурии. Это объясняется тем, что сыворотка крови, вследствие накопления в ней веществ, обычно выделяемых почкой, приобретает более высокий удельный вес — удельный вес мочи только отражает это изменение. Удельный вес может служить мерилем количества выделенных плотных веществ.

### ЦВЕТ

Цвет мочи обусловлен наличием в ней пигментов (урохрома, уропорозеина, уроэритрина и др.) и обычно колеблется между бледножелтым и насыщенным красновато-желтым. Интенсивность окраски в общем соответствует степени насыщенности мочи. Насыщенная моча с высоким удельным весом темнее, моча с низким удельным весом светлее. Исключение составляет диабет, при котором моча, несмотря на очень высокий удельный вес, бледная. Различные примеси экзо- или эндогенного происхождения могут придавать моче самую разнообразную окраску.

Красный цвет или красноватый оттенок мочи приобретает при наличии в ней крови, при уропорфиринурии, употреблении антипирина, сульфонала, трионала, красного стрептоцида, пирамидона, сантонина. Последний дает красную окраску только при выделении щелочной мочи. В мочу переходят также пигменты моркови и свеклы.



Зеленый оттенок мочи наблюдается при наличии небольшого количества желчных пигментов, метиленовой синьки, при употреблении препаратов хризофановой кислоты (ревень, александрийский лист).

Коричневый цвет может зависеть от присутствия в моче больших количеств желчных пигментов, разложившейся крови (метгемоглобин); коричневой моча становится также при приеме фенола, крезола и бреникатехина.

Беловатый цвет выделяемой мочи может быть связан с выделением большого количества фосфатов и при липурии, т. е. выделении жира, имеющем место при инвазии паразита *Filaria sanguinis hominis*.

Черная окраска, появляющаяся при стоянии мочи на воздухе, наблюдается при алькаптании, резком нарушении белкового обмена, при котором с мочой выделяется гомогентизиновая кислота. Прибавление нескольких капель  $\text{HCl}$  к моче ускоряет появление черной окраски.

Синий цвет мочи имеет при выделении значительного количества метиленовой синьки.

Если исключить эти случайные примеси, то цвет мочи обуславливается количеством пигментов и, следовательно, отражает до известной степени некоторые особенности обмена и функций отдельных органов.

Изменения окраски мочи могут быть при тяжелых заболеваниях печени. Однако легкие степени недостаточности печени (при застое сердечного происхождения, инфекционных заболеваниях и т. п.) могут повлечь за собой выделение с мочой большого количества пигментов, вследствие чего она принимает более интенсивную окраску. Наоборот, при недостаточности почек, особенно при тяжелых ее степенях, всегда выделяется бледная моча, даже если имеются моменты, при которых моча обычно темнеет (рвота, понос); если при этом и удельный вес стойко держится на 1010, то можно с уверенностью говорить о почечной недостаточности. Бледная окраска мочи иногда наблюдается и при легких степенях почечной недостаточности (при сморщенной почке), но вообще на основе наблюдения только за окраской и удельным весом нельзя диагностировать легких степеней недостаточности почек. При остром нефрите моча хорошо окрашена и отсутствует изостенурия; между тем может иметь место недостаточность в отношении выделения мочевины и мочевой кислоты.

Бледная окраска мочи может быть вызвана не только утратой почкой способности выделять красящие вещества, но также и тем, что больная почка не превращает хромогены в пигменты, а выделяет их как таковые. Вследствие этого такая моча часто темнеет при стоянии, особенно на ярком свете, а также при добавлении окислителей, например, марганцовокислого калия, или при взбалтывании с каолином. Пожелтение мочи при этих условиях служит указанием на тяжелое поражение почек.

### ПРОЗРАЧНОСТЬ

Различают мочу, уже выделившуюся мутной, от мочи, помутневшей при стоянии. Иногда важно указать даже, как скоро в ней выпадает тот или иной осадок.

В нормальной прозрачной моче при стоянии часто образуется облачко-видное помутнение (*pubescula*), не имеющее никакого диагностического значения.

Различают, далее, прозрачную, мутноватую, мутную и молочно-мутную мочу; последняя встречается весьма редко и объясняется выделением с мочой жира (хилурия). Помутнение может зависеть от присутствия солей — уратов, фосфатов, оксалатов или карбонатов — или же от примеси слизи,



гноя, эпителия, микробов. Муть, обусловленная уратами, исчезает при нагревании или при прибавлении щелочи. Фосфаты образуют белый хлопьевидный или кристаллический осадок, количество которого при нагревании увеличивается; он растворяется при прибавлении уксусной кислоты. Муть от присутствия щавелевокислого кальция исчезает только при прибавлении соляной кислоты. Муть, вызванная присутствием гноя, не исчезает ни от нагревания, ни от прибавления щелочей или кислот; если к гнойному осадку, слив предварительно мочу, прибавить приблизительно  $\frac{1}{3}$  объема крепкой едкой щелочи, то клетки растворяются и из нуклеопротеидов ядер образуется нуклеиновокислая щелочь, которая желатинизирует, так что весь осадок превращается в густую стекловидную тянущуюся массу (реакция Доннэ). Эту реакцию, конечно, дают и другие клетки, но только лейкоциты содержатся в моче в таком количестве, чтобы она получилась положительной. Бактериальная муть отличается тем, что она остается равномерной и плохо отфильтровывается. Точное распознавание причины мути, которая нередко обуславливается одновременно несколькими причинами (например, гной в щелочной богатой фосфатами моче), возможно только под микроскопом.

### ЗАПАХ

Запах мочи не представляет интереса, за исключением, может быть, так называемого «плодового запаха», указывающего на большое количество ацетоновых тел. Резкое зловоние наблюдается после употребления в пищу спаржи, хрена или чеснока.

### РЕАКЦИЯ

1) Качественное определение. Реакцию мочи определяют качественно посредством синей и красной лакмусовой бумажки. Она может быть кислой, щелочной, нейтральной или амфотерной, т. е. синяя лакмусовая бумажка может покраснеть или же красная — посинеть, или же они не изменяются, или, наконец, очень слабо изменяется и та, и другая. Но покраснение лакмусовой бумажки не допускает никакого дифференцирования, — нет возможности отличить кислую мочу, степень кислотности которой еще находится в пределах нормальной, от патологически кислой, при которой, например, выпадение осадка мочевой кислоты и мочекислых солей может иметь место уже на протяжении мочевыводящих путей. Эта степень кислотности распознается при прибавлении к моче спиртовой настойки кошенили или лакмоида; первая при этой степени кислотности изменяет свой цвет из розового в желтый, вторая — из фиолетового в розовый.

2) Количественное определение. а) Посредством титрования. Нормальная кислая реакция мочи обуславливается главным образом присутствием кислых фосфатов типа  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ . Но, наряду с этими солями, в моче постоянно содержатся и фосфаты типа  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , дающие с лакмусом щелочную реакцию; поэтому и кислая моча обладает некоторой степенью щелочности, которая определяется по тому количеству кислоты, которое нужно потратить, чтобы перевести все имеющиеся фосфаты в кислые. Титрование, таким образом, приходится производить двоякое.

Для определения степени кислотности прибавляют к 25 см<sup>3</sup> мочи 15—20 г мелкопорошковидного нейтрального щавелевокислого калия, взбалтывают, прибавляют несколько капель 0,5% спиртового раствора фенолфталеина и титруют п/10 раствором едкого натра до стойкого слабозо-



вого окрашивания. Прибавление щавелевокислого калия желательно, так как иначе во время титрования происходит разложение аммиачных солей с выпадением в осадок солей с характером основания, что, естественно, отражается на результате титрования.

Для определения степени щелочности 25 см<sup>3</sup> мочи титруют п/10 раствором соляной кислоты в присутствии 1% водного раствора ализариновокислого натрия до появления желтого окрашивания. В том и в другом случае умножают результат на 4, чтобы привести к 100 см<sup>3</sup>, или на суточное количество мочи (деленное на 25), если нужно узнать количество кислотных и щелочных соединений, выделенное за сутки.

При титровании кислотности суточного количества нормальной мочи обычно затрачивается 200—500, в среднем 350 см<sup>3</sup> п/10 едкого натра; выраженная в количестве соляной кислоты (потраченное количество едкой щелочи умножают на 0,00365 г) кислотность обычно составляет в сутки около 1—2,3 г. Степень щелочности соответствует около 1,5 г едкого натра (для выражения щелочности в количестве едкого натра потраченное при титровании количество п/10 HCl умножают на 0,004 г).

**Диагностическое значение.** Определение титрационной кислотности и щелочности мочи имеет большое значение для суждения о характере обмена организма. Через почку выделяются кислоты и щелочи, введенные с пищей и образовавшиеся в процессе обмена. Определение истинной (активной) кислотности дает сведения о взаимоотношении кислых и щелочных эквивалентов между собой, но ничего не говорит об абсолютном количестве выделенных кислых и щелочных соединений, а именно это и нужно знать для характеристики обмена. Поэтому с разработкой методики определения истинной кислотности определение титрационной кислотности отнюдь не потеряло значения. В частности, титрационная кислотность входит как один из членов в большинство коэффициентов, предложенных для характеристики кислотно-щелочного равновесия организма. Простейший из этих коэффициентов выражается дробью:

$$\frac{\text{Азот аммиака} + \text{титрационная кислотность}}{\text{Общий азот}}$$

Из того, что ниже сказано о диагностическом значении определения аммиака, ясно, почему он входит в этот коэффициент и почему он связан с общим азотом.

б) **Определение истинной кислотности мочи (концентрации водородных ионов).** Для определения концентрации водородных ионов предложено несколько индикаторов, из которых каждый охватывает определенный интервал pH. Каждый из этих индикаторов изменяет свой цвет от почти бесцветного в наиболее кислом растворе соответствующего интервала pH до интенсивного желто-зеленого в наиболее щелочном растворе того же интервала. Растворы этих индикаторов при хранении их в запаянных пробирках весьма стойки, так что можно изготовить из каждого из них ряд стандартных растворов постепенно изменяющейся кислотности и в дальнейшем сравнивать с этими стандартными растворами испытуемую жидкость, к которой был прибавлен тот индикатор, с раствором которого ее предполагается сравнивать.

Для определения концентрации водородных ионов мочи достаточно 4 индикаторов:

- 1) α-динитрофенол для pH от 2,8 до 4,4
- 2) γ-динитрофенол » pH » 4,0 » 5,4
- 3) паранигрофенол » pH » 5,4 » 7,0
- 4) метанитрофенол » pH » 6,8 » 8,4



Изготовление растворов индикаторов. Для прибавления к испытуемой жидкости служат основные растворы индикаторов. 1) 0,05% раствор  $\alpha$ -динитрофенола: растворяют 0,1 г индикатора в 200 см<sup>3</sup> дистиллированной воды; 2) 0,025% раствор  $\gamma$ -динитрофенола: 0,1 г этого индикатора растворяют в 400 см<sup>3</sup> воды; 3) 0,1% раствор паранитрофенола: 0,1 г растворяют в 100 см<sup>3</sup> воды; 4) 0,03% раствор метанитрофенола: 0,1 г растворяют в 300 см<sup>3</sup> воды. Из этих основных растворов изготовляют стандартные растворы. Для этой цели нужно иметь также п/10 раствор соды и пробирки из бесцветного стекла, имеющие совершенно одинаковый диаметр. В последнем убеждаются следующим образом: наливают в ряд пробирок точно по 10 см<sup>3</sup> воды и выбирают для помещения индикаторного раствора те из пробирок, в которых уровень жидкости стоит на одинаковой высоте. Все 4 основных раствора разбавляют точно в 10 раз. Устанавливают отобранные пробирки рядами по 9 пробирок в каждом, отмеривают в каждую пробирку указанное ниже количество индикатора и доливают точно до 7 см<sup>3</sup> п/10 раствором соды (табл. 41).

Таблица 41

№ пробирки	$\alpha$ -динитрофенол			$\gamma$ -динитрофенол			Паранитрофенол			Метанитрофенол		
	pH	количество раствора индикатора в см <sup>3</sup>	количество раствора соды в см <sup>3</sup>	pH	количество раствора индикатора в см <sup>3</sup>	количество раствора соды в см <sup>3</sup>	pH	количество раствора индикатора в см <sup>3</sup>	количество раствора соды в см <sup>3</sup>	pH	количество раствора индикатора в см <sup>3</sup>	количество раствора соды в см <sup>3</sup>
1	2,8	0,51	6,49	4,0	0,74	6,26	5,4	0,16	6,84	6,8	0,27	6,73
2	3,0	0,78	6,22	4,2	1,10	5,90	5,6	0,25	6,75	7,0	0,43	6,57
3	3,2	1,20	5,80	4,4	1,65	5,35	5,8	0,40	6,60	7,2	0,66	6,34
4	3,4	1,74	5,26	4,6	2,40	4,60	6,0	0,63	6,37	7,4	1,0	6,0
5	3,6	2,50	4,50	4,8	3,40	3,60	6,2	0,94	6,06	7,6	1,5	5,5
6	3,8	3,40	3,60	5,0	4,50	2,50	6,4	1,40	5,6	7,8	2,3	4,7
7	4,0	4,60	2,40	5,2	5,50	1,50	6,6	2,08	4,92	8,0	3,0	4,0
8	4,2	5,70	1,30	5,4	6,60	0,40	6,8	3,0	4,0	8,2	4,2	2,8
9	4,4	6,70	0,30	—	—	—	7,0	4,05	2,95	8,4	5,2	1,8

Все заполненные таким образом пробирки запаивают и снабжают этикетками, на которых обозначен pH раствора, которому соответствует окраска индикатора.

Ход определения. Мочу лучше брать посредством катетера, опуская конец его в сосуд, содержащий небольшое количество жидкого парафина, так, чтобы моча поступала прямо под слой парафина. Далее, измерение концентрации водородных ионов желательно произвести так, чтобы моча сохраняла температуру тела (37—38°); иначе, т. е. при соприкосновении мочи с воздухом и при охлаждении ее, тотчас меняется содержание в ней CO<sub>2</sub>, а тем самым и степень ее кислотности. Тем не менее, ввиду трудности соблюдения этих условий в обычных клинических лабораториях, не прибегают к этим предосторожностям. Но во всяком случае необходимо исследовать свежесобранную мочу.

Так как степень кислотности мочи, за редкими исключениями, колеблется только от pH=5,4 до pH=8,4, то практически достаточно иметь в своем распоряжении два последних индикатора. Предварительно грубо определяют реакцию мочи при помощи лакмусовой бумажки: если синяя бумажка краснеет, то пользуются в дальнейшем паранитрофенолом, в обратном случае — метанитрофенолом. Сравнение со стандартом производят



в приборе, дающем возможность исключить цвет самой мочи. Это так называемый компаратор Вальполя, представляющий собой в сущности простой деревянный блок, в котором имеются 4 или 6 вертикальных углублений для пробирок, расположенных в два ряда одно за другим таким образом, что четвертое находится за первым, пятое за вторым и шестое за третьим, и три проходящие насквозь горизонтальные отверстия, пересекающие вертикальные. На задней поверхности блока имеется молочное и синее стекло, закрывающее все три отверстия (рис. 111).

В пробирку отмеривают 6 см<sup>3</sup> мочи. Если моча сильно окрашена, то берут 2 см<sup>3</sup> мочи + 4 см<sup>3</sup> 2% раствора хлористого натрия или 1 см<sup>3</sup> мочи и 5 см<sup>3</sup> того же раствора (степень кислотности мочи от этого не изменяется) и прибавляют 1 см<sup>3</sup> соответствующего индикатора; пробирку

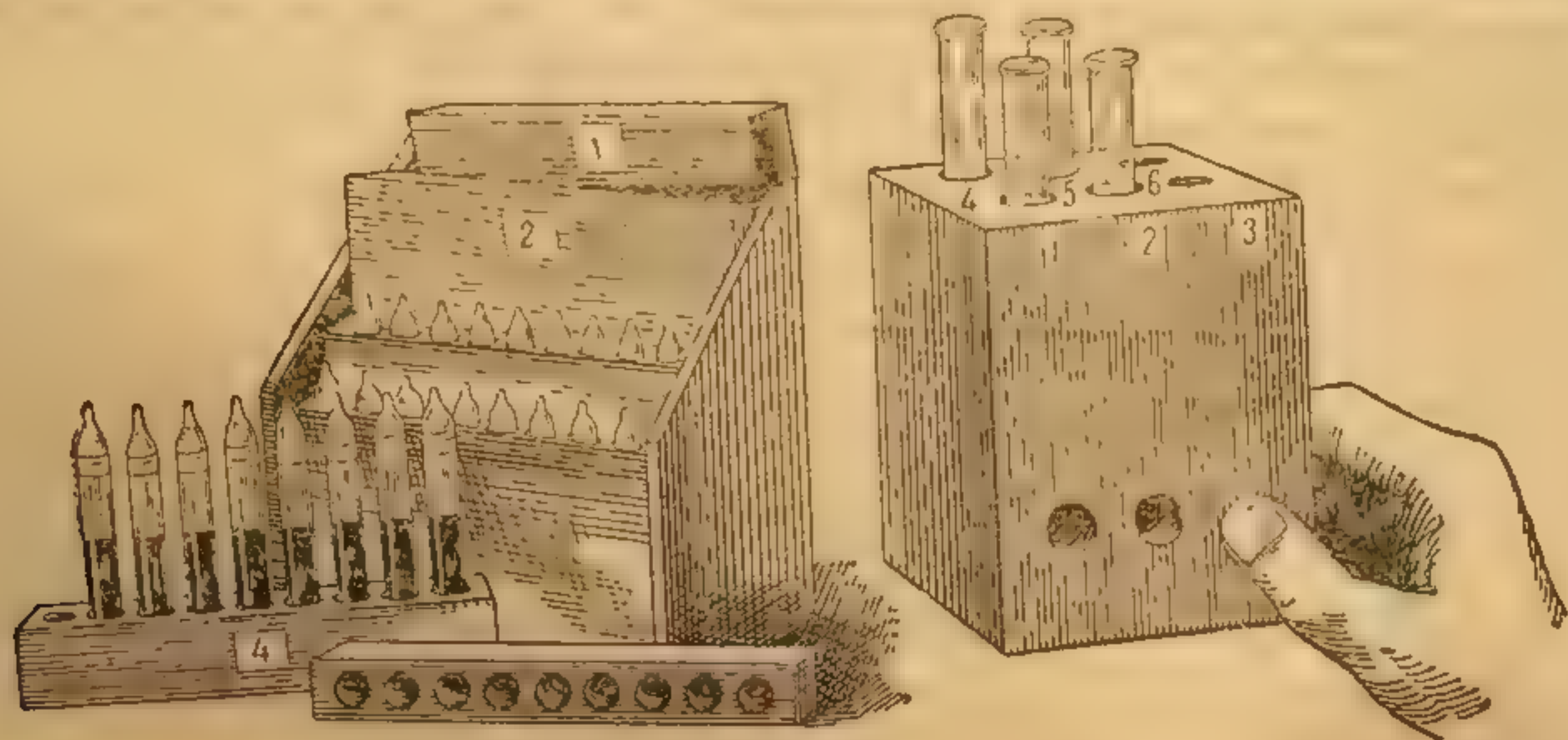


Рис. 111. Ряды индикаторов и компаратор.

помещают в одно из отверстий первого ряда. Сзади нее помещают пробирку с раствором хлористого натрия. В соседнее отверстие помещают стандартную индикаторную пробирку и сзади нее пробирку, содержащую 6 см<sup>3</sup> мочи (цельной или разведенной в той же степени, как в первой пробирке) и 1 см<sup>3</sup> солевого раствора. Все пробирки должны быть одинакового диаметра и из бесцветного стекла. Луч света, проходя через горизонтальные отверстия компаратора, встречает, таким образом, сумму одинаковых условий: стекло, моча, индикатор, солевой раствор.

Сравнивают окраску мочи с окраской стандартных пробирок и выбирают наиболее подходящую по цвету пробирку из этого индикаторного ряда. На пробирках обычно имеется уже пометка, какому pH она соответствует. Иногда трудно решить, какая из двух соседних пробирок данного ряда лучше подходит по цвету; в таком случае берут среднюю величину, т. е. если одинаково хорошо, но все же не вполне подходят стандартные пробирки, например, с pH=6,2 и 6,4, то pH испытуемой мочи равен 6,3. Стандартную пробирку можно брать только из ряда, содержащего тот же индикатор, который был прибавлен к моче. Если в данном ряду не оказывается пробирки с подходящей окраской и приходится перейти к другому индикаторному ряду, то нужно переделать и первую пробирку (с мочой), взяв опять соответствующий индикатор.

в) Диагностическое значение определения реакции мочи. При нормальных условиях и при смешанной пище моча человека имеет слабокислую реакцию. В зависимости от пищевого режима реакция мочи изменяется: при преимущественно мясной пище и при обилии злаков она кислая, при овощной — щелочная. Само собой разумеется, что



щелочная реакция мочи наблюдается также при приеме щелочи (например, соды или щелочных минеральных вод). В процессе желудочного пищеварения реакция мочи становится более щелочной; при отсутствии кислотности желудочного сока (ахилии) реакция мочи во время пищеварения не изменяется; при повышенной кислотности, наоборот, щелочность ее возрастает особенно сильно. Щелочная реакция наблюдается после обильной кислой рвоты и во время всасывания отеков. Заражение мочевыводящих путей некоторыми видами микробов вызывает аммиачное брожение мочи и тоже является причиной выделения щелочной мочи. Наоборот, при некоторых патологических состояниях выделяется резко кислая моча; в первую очередь это наблюдается при сахарной болезни. В таком случае можно составить себе некоторое суждение о степени ацидоза, определяя количество двууглекислого натрия, которое нужно ввести больному, чтобы моча стала щелочной: здоровому достаточно дать 10 г, диабетика же приходится давать 30 г и больше. Точнее степень диабетического ацидоза определяется путем измерения выделения суточного количества аммиака (см. «Аммиак»).

Далее, моча кислой реакции выделяется при тяжелой почечной недостаточности вследствие того, что больная почка не образует аммиака, нейтрализующего мочу (см. также «Определение аммиака»).

О кислой реакции мочи при так называемой мочекаменной болезни см. в главе о мочевых осадках («Ураты» и «Мочевая кислота»).

## БЕЛОК

Некоторое количество белка имеется в нормальной моче, но оно не обнаруживается теми способами, которые применяются в диагностических лабораториях; поэтому принято говорить, что в нормальной моче белка нет, а он появляется в ней только при особых, в большинстве случаев патологических, условиях (см. ниже). Этот белок почти всегда представляет собой смесь сызороточных альбуминов и глобулинов. Соотношение их изменяется при различных условиях. Повидимому, при более тяжелых поражениях почек количество глобулинов относительно больше, так что коэффициент  $\frac{\text{альбумины}}{\text{глобулины}}$  невысок — ниже 5; при более легких поражениях этот коэффициент выше. Много глобулинов выделяется при липоидном нефрозе, а по некоторым авторам также и при так называемых физиологических альбуминуриях (см. ниже). Таким образом, более детальное изучение белка мочи не приобрело еще определенного диагностического значения, может быть, отчасти потому, что, будучи технически относительно сложным, оно еще мало применялось при разнообразных патологических состояниях.

Все реакции на белок основаны на осаждении его, т. е. на появлении при легкой альбуминурии муты; поэтому при производстве реакций на белок моча должна быть совершенно прозрачной. Не совсем прозрачную мочу нужно профильтровать. Если после повторного фильтрования через двойной фильтр (не меняя фильтра) моча остается мутной, то перед фильтрованием ее взбалтывают с небольшим количеством инфузورной земли или талька. Однако прибавления инфузорной земли следует по возможности избегать, так как незначительное количество белка при этом теряется. Если приходится производить реакцию на белок в не совсем прозрачной моче, то разливают ее поровну в две пробирки одинакового стекла и равного диаметра. В одну из этих пробирок прибавляют реактив, другая служит для сравнения



Реакция мочи, исследуемой на белок, должна быть кислой; прибавлению реактива должно предшествовать испытание лакмусовой бумагой. Если нужно, прибавляют несколько капель 10% уксусной кислоты.

1) Качественное определение. а) Проба с сульфосалициловой кислотой. Реактивы. 20% (можно брать и 10%) раствор сульфосалициловой кислоты готовят в небольшом количестве и хранят во флаконе из темного стекла без доступа яркого света. Удобнее и экономнее пользоваться смесью следующего состава: в 750 см<sup>3</sup> (приблизительно) дистиллированной воды растворяют 200 г сернокислого натрия, прибавляют 50 г сульфосалициловой кислоты и по растворении доводят водой до метки. При работе с первым реактивом в пробирку наливают 4—5 см<sup>3</sup> совершенно прозрачной слабокислой или кислой мочи и 8—10 капель 20% раствора сульфосалициловой кислоты. Второй реактив приливают к моче в равном количестве. В зависимости от количества белка получается хлопьевидный осадок, муть или легкая опалесценция. В последних случаях необходимо сравнивать с пробиркой, в которую налита чистая профильтрованная моча, так как иначе незначительную муть можно проглядеть. Альбумозы тоже дают эту реакцию, но муть, вызванная присутствием альбумоз, растворяется при нагревании, тогда как муть от белка усиливается. Чувствительность реакции — 0,015‰ белка. Таким образом, эта реакция более чувствительна, чем проба с азотной кислотой (см. ниже), и может случиться, что сульфосалициловая кислота даст положительную, а азотная кислота — отрицательную реакцию. В таком случае отмечают, что моча содержит лишь следы белка, количественно неопределимые, — менее 0,033‰. Эти следы белка могут не представлять собой патологического явления.

б) Проба с кипячением. Реактивы. Слабый раствор (3—10%) уксусной или азотной кислоты или, лучше, ацетатный буфер: 56,5 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты и 118 г уксуснокислого натрия растворяют в воде и доводят в мерной колбе до 1 л.

Ход определения. Мочу кислой реакции (щелочную мочу необходимо предварительно подкислить уксусной кислотой до слабокислой реакции) кипятят в пробирке; появляющийся при этом осадок может зависеть как от выпадения белка, так и от выпадения фосфорнокислого или углекислого кальция. Прибавляют к моче  $\frac{1}{10}$  ее объема ацетатного буфера или же несколько капель кислоты (последнюю надо прибавлять осторожно, так как избыток ее растворяет небольшие количества белка) и снова кипятят. Соли при кипячении растворяются, так что моча вновь становится прозрачной; если же муть не исчезает, то моча содержит белок; иногда муть, наоборот, появляется только по прибавлении реактива.

Источники ошибок. 1. Если кипячение производилось в щелочной моче, то послеующее прибавление уксусной кислоты может не обнаружить белка; поэтому рекомендуется перед всякой пробой на белок проверять реакцию мочи (см. выше). 2. Если моча содержит очень мало солей, то белок не выпадает. Необходимо в таких случаях прибавлять несколько капель концентрированного раствора поваренной соли.

в) Кольцевая проба (Геллера). Реактивы. Концентрированная азотная кислота (*Ac. nitricum concentratum purum*); ее можно без вреда для последующего определения разбавить пополам водой. Лучше пользоваться реактивом следующего состава: смешивают 1 объем концентрированной азотной кислоты и 4 объема насыщенного водного раствора сернокислого магния; в присутствии этого реактива не выпадают некоторые соли, которые затемняют реакцию с азотной кислотой, и в то же время создаются наиболее благоприятные условия для осаждения белка.



По предложению Ларионовой, при производстве качественной пробы Геллера и количественного определения белка по Брандбергу применяется 1% раствор азотной кислоты в насыщенном растворе поваренной соли. Результаты получаются вполне удовлетворительные; в то же время экономия азотной кислоты при этом способе очень большая.

В коническую рюмочку или пробирку наливают тот или иной реактив, стараясь, чтобы он попал прямо на дно, не смочив стенок, иначе моча преждевременно смешается с реактивом. Если же одна стенка все же оказалась смоченной, то пробирку поворачивают и наливают мочу по другой стенке. Держа сосуд наклонно, пипеткой осторожно приливают мочу по стенке пробирки так, чтобы она не смешалась с реактивом, а осталась поверх него. В присутствии белка на границе обеих жидкостей получается белое кольцо. При незначительном количестве белка кольцо появляется лишь спустя 2—3 минуты. Чувствительность реакции 0,033‰ белка, т. е. положительная реакция получается, если моча содержит белок в количестве 33 мг в 1000 см<sup>3</sup>; реактив несколько чувствительнее, чем чистая кислота. Моча, богатая мочекислыми солями, также дает беловатое кольцо, но последнее располагается выше границы между обеими жидкостями и исчезает при нагревании; после употребления копейского или других бальзамов тоже получается кольцо, которое, однако, растворяется в спирте; индикан дает при этих условиях фиолетовое или синее, билирубин — зеленое кольцо.

г) Проба с уксусной кислотой и хлористым натрием. Реактивы. 1) 50% раствор уксусной кислоты; 2) насыщенный раствор хлористого натрия (приблизительно 30%).

Ход определения. К 5 объемам мочи в пробирке приливают 1 объем кислоты (1) и 3 объема соли (2) и осторожно нагревают до кипения. После прибавления кислоты выпадают ураты и некоторые другие соли; после прибавления хлористого натрия выпадает белковое тело Бенс-Джонса или (β) глобулины; при нагревании белковое тело растворяется, а альбумины и глобулины остаются в виде мути или хлопьев.

2) Количественное определение. Для количественного определения белка пользуются способом Брандберга (Робертс-Стольников).

а) Способ Брандберга (Робертс-Стольников). Этот способ основан на наблюдении, что появление тонкого, но отчетливо видимого кольца при пробе Геллера между 2-й и 3-й минутой соответствует содержанию 0,033‰ белка в исследуемой жидкости. Сначала производят пробу с цельной мочой. Если при этом получается нитевидное кольцо к концу 3-й минуты, то в моче содержится 0,033‰ белка. Если кольцо образуется раньше, но носит характер нитевидного, то мочу разбавляют вдвое и в дальнейшем обычным образом наслаивают разведенную мочу на азотную кислоту и отмечают время появления кольца. Если при наслаивании моча образует не нитевидное, а широкое кольцо, то мочу разводят в 4 раза; если же кольцо отличается еще и компактностью, — то в 8 раз. Это правило относится не только к цельной моче, но и к каждому из разведений: если моча, разведенная в 8 раз, по наслаивании дает широкое кольцо, то следует развести ее еще в 4 раза и т. п.

#### Определение основных цельных разведений

Свойства кольца	Нитевидное	Широкое	Компактное
Степень разведения	В 2 раза	В 4 раза	В 8 раз

Если при наслаивании цельной мочи или разведенной по указанному плану в 2, 4 или 8 раз кольцо образуется между 2-й и 3-й минутой, то количество белка в 1000 см<sup>3</sup> соответствует 0,033, умноженному на сте-



пень разведения, т. е. 0,066, или 0,132, или 0,264. Если кольцо получается раньше, то белка соответственно больше, и, следовательно, нужно сделать новое разведение. Последнее надо производить очень точно, лучше всего градуированными пипетками или небольшим цилиндром с мелкими делениями (табл. 42).

Таблица 42

Разведения мочи при определении белка  
по способу Брандберга

Количество мочи (в см <sup>3</sup> )	Количество воды (в см <sup>3</sup> )	Степень разведения	Количество белка (в ‰)
1	1	2	0,06
1	2	3	0,09
1	3	4	0,12
1	4	5	0,15
1	5	6	0,18
1	6	7	0,21
1	7	8	0,24
1	8	9	0,27
1	9	10	0,3

При большом количестве белка исходят из разведенной в 10 раз мочи (1 часть мочи + 9 частей воды) и делают пробы со следующими разведениями:

2 см <sup>3</sup> 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	раствора мочи	+ 1 см <sup>3</sup> воды	15-го разведения	— 0,45 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	белка
2 » 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	»	+ 2 »	20-го »	— 0,6 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	»
2 » 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	»	+ 3 »	25-го »	— 0,75 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	»
2 » 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	»	+ 4 »	30-го »	— 0,9 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	»
2 » 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	»	+ 5 »	35-го »	— 1,05 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	»
2 » 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	»	+ 6 »	40-го »	— 1,2 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	»
2 » 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	»	+ 8 »	50-го »	— 1,5 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	»
1 » 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	»	+ 5 »	60-го »	— 1,8 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	»
1 » 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	»	+ 6 »	70-го »	— 2,1 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	»
1 » 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	»	+ 7 »	80-го »	— 2,4 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	»
1 » 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	»	+ 8 »	90-го »	— 2,7 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	»
1 » 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	»	+ 9 »	100-го »	— 3,0 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	»
и т. д.					
1 см <sup>3</sup> 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	раствора мочи	+ 19 см <sup>3</sup> воды	200-го разведения	— 6,0 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	белка
1 » 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	»	+ 24 »	250-го »	— 7,5 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	»
1 » 10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	»	+ 29 »	300-го »	— 9,0 <sup>0</sup> / <sub>00</sub>	»

б) Диагностическое значение нахождения белка в моче уменьшается тем, что он встречается в ней не только при заболевании почек, а также и тем, что количество белка не всегда соответствует тяжести поражения. Альбуминурия отнюдь не означает нефрита, точно так же как отсутствие белка еще не является доказательством здоровой почки: при чистом гломерулонефрите (гломерулите) моча может содержать очень мало или даже вовсе не содержать белка. В первую очередь надо различать белок, выделенный почками, от белка, происходящего из мочевыводящих путей; дифференциальный диагноз ставится при помощи исследования под микроскопом осадка или же путем катетеризации мочеточников. Следы белка почечного происхождения могут быть обнаружены в моче уже после употребления в пищу большого количества сырого куриного белка. Физическое напряжение, холодное купание часто вызывают появление в моче белка в количестве до 0,1—0,4<sup>0</sup>/<sub>00</sub>, правда, быстро исчезающего. Нарушение кровообращения имеет очень большое значение: при застойной почке альбуминурия наблюдается как правило, причем иногда белка бывает очень много; ортостатическая альбуминурия



тоже основана на измененном кровообращении. Что касается почечных болезней, то наибольшим содержанием белка сопровождаются поражения тубулярного аппарата, в особенности токсические, дегенеративные и некротизирующие, и амилоидное перерождение почек. Если все остальные симптомы указывают на диффузный гломерулонефрит, то большое количество белка говорит за наличие также и нефротических изменений. Очаговый гломерулонефрит и сморщенная почка дают очень малые количества белка; при так называемой genuинной сморщенной почке белка даже может не быть вовсе. При острых инфекционных болезнях иногда выделяется очень много белка, хотя поражение почек отнюдь не тяжелое. Самой легкой формой альбуминурии является выделение уксуснобелкового тела (см. ниже).

3) Удаление белка из мочи. Нередко при исследовании мочи присутствие белка мешает правильному ходу реакции, например, при определении сахара: в таких случаях белок необходимо предварительно удалить. Это легче всего достигается путем кипячения мочи с уксусной кислотой. Слабокислую мочу нагревают до начала кипения; если белок не выделяется в виде крупных хлопьев, а образует муть, то осторожно прибавляют по каплям разведенную уксусную кислоту (избыток уксусной кислоты вновь растворяет белок, так что его следует избегать) и нагревают еще несколько минут, пока не образуются крупные хлопья. Охлаждают и фильтруют; фильтрат должен быть прозрачен и не должен давать мути при прибавлении сульфосалициловой кислоты: несколько капель фильтрата переносят на часовое стекло, помещают сбоку каплю 20% раствора сульфосалициловой кислоты (см. «Качественное определение белка») и дают ей стечь в фильтрат; появление мути указывает на присутствие белка.

Если таким путем не удалось избавиться от белка, то к моче приливают  $\frac{1}{10}$  ее объема ацетатного буфера  $pH=5,7-5,8$  (стр. 138) и кипятят 30 секунд, охлаждают, фильтруют.

Можно также осадить белок коллоидальным раствором гидрата окиси цинка; к 5 см<sup>3</sup> нормального раствора едкого натра прибавляют 1 каплю фенолфталеина и столько 10% раствора сернокислого цинка, чтобы красное окрашивание исчезло. К полученному коллоидальному раствору прибавляют 50 см<sup>3</sup> мочи, нагревают в течение 5 минут на водяной бане и фильтруют. Тот же результат достигается прибавлением к моче в количестве  $\frac{1}{3}-\frac{1}{4}$  ее объема порошка каолина; взбалтывают, фильтруют и проверяют на полноту удаления белка сульфосалициловой кислотой. Если в фильтрате предполагают производить количественные определения, то нужно привести его к первоначальному объему. В таком случае мочу предварительно точно отмеривают, например, мерной колбой, выливают ее в эрленмейеровскую колбу, кипятят, как было указано, фильтруют в мерную колбу такой же емкости, как первая, ополаскивают колбу, в которой происходило кипячение, выливают эту воду на фильтр, чтобы промыть осадок, дают стечь промывной воде в ту же мерную колбу, дают остыть и доводят до метки.

### АЛЬБУМОЗЫ

Альбумозами в применении к моче называют смесь различных продуктов расщепления белков, не свертывающихся при кипячении, но дающих положительную биуретовую реакцию и высаливаемых некоторыми солями, в особенности сернокислым аммонием и сернокислым цинком в кислой среде.



Определение альбумоз возможно с полной достоверностью только при отсутствии в моче белка, так как белок может в уже выпущенной моче подвергнуться расщеплению, вследствие воздействия содержащегося в моче пепсина или примененных для удаления белка реактивов. Реакции на альбумозы следующие:

1. 10—20 см<sup>3</sup> мочи насыщают 8—16 г сернокислого аммония, нагревают до кипения и оставляют кипеть несколько секунд (при слишком длительном кипячении альбумозы могут вторично образоваться из имеющегося белка). Альбумозы и свернувшийся белок плавают в насыщенном солью жидкости и оседают на стенках пробирки. Жидкость быстро сливают; если осадок не удерживается на стенках пробирки, его отфильтровывают. Из осадка удаляют уробилин, взбалтывая его в большом количестве спирта, затем, если этого оказалось недостаточно, — хлороформа и снова спирта, сливая каждый раз жидкость. Прибавляют к осадку 3—4 см<sup>3</sup> воды, нагревают до кипения и фильтруют. Белок остается на фильтре, а фильтрат содержит альбумозы, которые с концентрированным раствором едкого натра дают биуретовую реакцию: прибавляют к фильтрату около половины его объема концентрированного раствора едкого натра, 1—2 капли очень слабого, почти бесцветного раствора сернокислой меди и взбалтывают смесь, — получается красно-фиолетовое окрашивание.

2. К моче приливают несколько капель 10—20% сульфосалициловой кислоты; в присутствии альбумоз появляется муть, которая исчезает при нагревании и появляется вновь при охлаждении. Не следует смешивать с белковым телом Бенс-Джонса (см. ниже); в присутствии последнего при нагревании до 40—60° появляется муть, исчезающая при дальнейшем нагревании и вновь появляющаяся при охлаждении.

3. К моче, подкисленной уксусной кислотой, прибавляют 1/8 объема насыщенного раствора хлористого натрия, кипятят; горячую жидкость фильтруют. Белок при кипячении свертывается и задерживается фильтром, альбумозы же проходят через фильтр и при охлаждении фильтрата выпадают в виде мути, вновь исчезающей при нагревании. В случае отрицательного результата рекомендуется пробу повторить, изменив количество уксусной кислоты.

Первая из описанных реакций дает положительный результат в присутствии 0,05% альбумоз, если для исследования было взято 20 см<sup>3</sup> мочи; можно сделать ее более чувствительной, взяв более 20 см<sup>3</sup> исходного материала. В патологических случаях было описано выделение 0,06—0,6% альбумоз; наиболее высокие цифры относятся к случаям эмфием и крупозной пневмонии.

Нормальная моча альбумоз не содержит, но их следы могут все же иметься и в нормальной моче, если к ней примешана семенная жидкость, так как последняя содержит альбумозы.

При патологических состояниях альбумозы обнаруживаются в моче очень часто: при большинстве лихорадочных заболеваний, сопровождающихся повышенным распадом клеток (пневмония, скарлатина, грипп, дифтерия, тиф, туберкулез, корь), а также после введения сывороток, инъекций туберкулина и т. п.

### УКСУСНОБЕЛКОВОЕ ТЕЛО И ХОНДРОИТИНСЕРНАЯ КИСЛОТА

В некоторых случаях моча уже на холоду дает осадок после прибавления уксусной кислоты. Пробу производят следующим образом: к разведенной в 3 раза моче прибавляют несколько капель 10% уксусной кислоты: появляется муть или осадок, иногда только спустя несколько

минут. Это не представ  
растворимое  
вещества. Г  
сколько: хо  
слоты. Оса  
желтухе во  
лок. Таким  
щая появ  
что эти те  
канальцев,  
поражения  
снобелково  
уксуснобел  
щения в  
После ис  
гое время  
ее смешив  
кислоты и  
здается му

При  
фатическо  
чается о  
отсутству  
ковое тел  
температу  
Моча дол  
творения  
жит так  
фильтру  
фильтрат  
трата.

Про  
помещак  
медленно  
должна  
солей; л  
твора х  
40°, вы  
пристак  
коватун  
к моче  
реакции  
павший  
из горя  
ном сл  
Ес  
одну и  
ванной  
мало,



минут. Это «белковое тело, осаждаемое уксусной кислотой на холоду», не представляет собой химического индивида, а является продуктом из растворимого белка и осаждающего белок (при слабокислой реакции) вещества. Подобных веществ в организме образуется, несомненно, несколько: хондроитинсерная кислота, нуклеиновые кислоты, желчные кислоты. Осаждающие свойства последних обуславливают то, что при желтухе всегда встречается уксуснобелковое тело — желчнокислый белок. Таким образом, хондроитурия — не единственная причина, вызывающая появление уксуснобелкового тела. Можно считать установленным, что эти тела образуются в самих почечных клетках, а именно в клетках канальцев, и что нахождение их является одним из первых признаков поражения канальцев, поэтому диагностическое значение пробы на уксуснобелковое тело весьма велико. Осаждающие тела, а следовательно, и уксуснобелковое тело часто появляются уже при изменениях кровообращения в почках — при так называемой ортостатической альбуминурии. После исчезновения уксуснобелкового тела нередко продолжает долгое время выделяться хондроитинсерная кислота. Для обнаружения ее смешивают 5 см<sup>3</sup> мочи с несколькими каплями 10% уксусной кислоты и 1 см<sup>3</sup> 1% раствора лошадиной сыворотки. На холоду образуется муть.

### БЕЛКОВОЕ ТЕЛО БЕНС-ДЖОНСА

При множественных миеломах (болезнь Калера), иногда при лимфатической лейкемии в моче, в крови и в отечной жидкости встречается особое белковое тело (или группа белковых тел). Иногда оно отсутствует в моче, но содержится в отечной жидкости. Это белковое тело отличается тем, что свертывается при относительно низкой температуре (40—60°), а при температуре кипения вновь растворяется. Моча должна иметь очень слабокислую реакцию; в обратном случае растворения при дальнейшем нагревании не происходит. Если моча содержит также и обычные сывороточные белки, то кипящую мочу быстро фильтруют и наблюдают, не появляется ли вновь муты при охлаждении фильтрата; эта муть должна целиком растворяться при нагревании фильтрата.

Пробу выполняют следующим образом: налитую в пробирку мочу помещают в водяную баню, снабженную термометром; воду нагревают медленно, наблюдая за температурой и за прозрачностью мочи. Моча должна иметь ясно кислую реакцию и содержать достаточное количество солей; лучше прибавить к ней небольшое количество насыщенного раствора хлористого натрия. Муть должна появиться при температуре около 40°, выпадение осадка — около 60°. Осадок не хлопьевидный, а липкий, пристающий к стенкам пробирки, превращающийся в дальнейшем в крошковатую массу, плавающую на поверхности мочи. Когда осадок выпал, к моче прибавляют 1—2 капли слабой уксусной кислоты до слабокислой реакции и продолжают нагревать воду, доводя ее до кипения (100°); выпавший раньше белок при этом вновь растворяется. Вынимают пробирку из горячей воды и наблюдают за процессом охлаждения; в положительном случае осадок должен вновь выпасть.

Если проба с нагреванием дала положительный результат, делают одну из контрольных проб: 1) прибавляют к моче немного концентрированной соляной кислоты: белок Бенс-Джонса свертывается; если белка мало, то лучше сделать эту пробу путем насливания, как при опреде-



лении белка кольцевой пробой (стр. 312), и наблюдать за появлением кольца; 2) осаждают белок спиртом и тотчас центрифугируют: осадок белка Бенс-Джонса растворим в воде.

## ВИНОГРАДНЫЙ САХАР (ГЛЮКОЗА)

Большинство способов качественного или количественного определения глюкозы основано на ее редуцирующей способности. Сюда относятся способы Бенедикта, Гайнеса (восстановление окиси меди), Нилендера (восстановление азотнокислого висмута), Хагедорна и Иенсена (см. «Определение сахара в крови» — восстановление железосинеродистого калия) и многие другие. Далее, пользуются оптической активностью глюкозы — ее растворы вращают поляризованный луч вправо — и ее способностью в присутствии дрожжей разлагаться с образованием спирта и углекислоты (бродить).

Перед выполнением проб на сахар необходимо убедиться в том, что моча не содержит белка, так как присутствие последнего затемняет результат реакций на сахар. Если к моче для предохранения ее от загнивания был прибавлен хлороформ, то его удаляют кипячением или пропусканием струи воздуха.

1) Качественное определение сахара. а) Проба Бенедикта. Реактив. 173 г лимоннокислого натрия или калия и 100 г безводного (или 200 г кристаллического) углекислого натрия растворяют при кипячении приблизительно в 700 см<sup>3</sup> дистиллированной воды: если нужно — фильтруют. Отдельно растворяют 17,3 г сернокислой меди в 100 см<sup>3</sup> воды. Вливают второй раствор в первый, все время помешивая. Переносят в мерную колбу емкостью в 1 л; после охлаждения доводят дистиллированной водой до метки.

Отмеривают в пробирку 5 см<sup>3</sup> этого реактива, прибавляют 8 капель мочи и кипятят на голом пламени 2—2½ минуты или в водяной бане 5 минут. Последний способ особенно удобен при массовом исследовании. Ставят пробирку в штатив и наблюдают за изменением цвета при охлаждении в течение 5—7 минут. Если моча не содержит сахара, то цвет мочи не изменяется и моча остается прозрачной или же появляется легкая синеватая муть от солей. В присутствии сахара появляется зеленоватый, желтый или красный осадок. Если зеленоватый осадок появляется лишь при охлаждении, то моча содержит только следы сахара; при содержании сахара 0,08—0,1% появляется слабая горохово-зеленая окраска; около 0,5% — коричневато-зеленая; 0,5—0,6% — коричневая; около 1% — желтая; более 2% — красная. Такое грубое суждение о концентрации сахара необходимо, если в дальнейшем точное количественное определение производится путем титрования.

б) Проба Нилендера. Реактив. 2 г азотнокислого висмута растирают в ступке с 4 г сегнетовой соли, растворяют в 100 г 10% едкого натра (при 19°, удельный вес 1,115) и фильтруют. В бутылки из темного стекла реактив стоек в течение долгого времени. Проверка качества реактива: несколько кубических сантиметров реактива разводят в 10 раз водой и кипятят небольшое количество этого раствора; при кипячении не должно наступать потемнения жидкости.

Ход определения. В пробирке смешивают 5 частей мочи и 2 части реактива и кипятят не менее 3 минут; оставляют стоять 10—15 минут. Во всякой моче при этом выпадает осадок, состоящий из фосфатов. Если моча содержит сахар, то осадок и вся жидкость окрашиваются в черный цвет. При незначительном содержании сахара жидкость только



немного темнеет, а изменяется главным образом цвет осадка, который после оседания на дно оказывается серовато-аспидным. Реакция чувствительна: она дает положительный результат в присутствии 0,1% и даже 0,05% сахара. Отрицательный результат этой пробы дает право утверждать, что моча не содержит сахара.

Реакция основана на том, что сахар в щелочной среде восстанавливает азотнокислый висмут в металлический. Восстановление это может произойти также после приемов ревения, санны, салициловой кислоты и антипирина (см. ниже). Присутствие белка также затемняет результат реакции.

**в) Проба Гайнеса. Реактив.** Старая пропись реактива Гайнеса требовала большего количества глицерина. Относительно недавно был предложен химиком Акимовым новый способ его изготовления, значительно более экономичный; испытание нового реактива в больших лабораториях показало его полную пригодность. Растворяют отдельно 13,3 г химически чистой кристаллической сернокислой меди в 400 см<sup>3</sup> воды. Далее растворяют 50 г едкого калия также в 400 см<sup>3</sup> воды. Заготавливают разведенный глицерин: 15 г чистого глицерина разводят в 200 см<sup>3</sup> воды. Смешивают первый и второй растворы и тотчас приливают третий. Реактив стоек.

**Ход определения.** К 3—4 см<sup>3</sup> реактива Гайнеса прибавляют 8—12 капель мочи и кипятят. В присутствии сахара выпадает осадок закиси меди от коричневатого-зеленого до красного цвета, в зависимости от количества сахара. Реакцию можно делать и в меньших количествах: 2 капли мочи + 8 капель реактива.

Как и в реакции Ниландера, так и при реакции с медным купоросом (Гайнеса) восстановление может обуславливаться целым рядом как нормальных, так и патологических составных частей мочи. В этом отношении значительным преимуществом обладает реактив Бенедикта: он менее легко восстанавливается мочевой кислотой и уратами; креатинин, а также прибавленный к моче для предупреждения загнивания хлороформ отражаются на этой реакции меньше, чем на остальных. В то же время эта реакция не менее чувствительна, чем остальные, поэтому она должна быть поставлена на первое место. Контрольной служит одна из двух других приведенных здесь реакций. Если же реактив Бенедикта почему-либо нет, а эти реакции дают неясный результат вследствие присутствия в моче не глюкозы, а других восстанавливающих веществ, то прибегают для контроля к реакции с фенилгидразином или к пробе на брожение.

### г) Перечень веществ, затемняющих результат реакций Гайнеса и Ниландера

#### 1. Составные части нормальной мочи, если их содержится относительно много

Гайнес	Ниландер
Бренцкатехин	Уроэретрин
Желчные пигменты	Мочевая кислота
Мочевые пигменты	Уробилин
Мочевая кислота	Урохром
Индикан	
Креатинин	
Уробилин	
Уробилиноген	



## 2. Ненормальные составные части

Гомогентизиновая кислота  
Уролейциновая кислота (?)  
Ацетон

Кровяной пигмент  
Гемапопорфирин  
Гомогентизиновая кислота  
Уролейциновая кислота (?)

## 3. Лекарственные вещества

Антипирин  
Антифебрин  
Арбутин  
Бензол  
Бензойная кислота  
Бромформ  
Гидрастин  
Копайский бальзам  
Кофеин  
Кубеба  
Морфин  
Ревень в больших дозах  
Салициловая кислота  
в больших дозах  
Салол  
Сахарин  
Сенна в больших дозах  
Скипидар  
Сульфонал  
Таннин  
Уретан  
Фенацетин  
Хлоралгидрат  
Хлороформ

Антипирин  
Арбутин  
Бензол  
Бензойная кислота  
Евкалипт  
Кубеба  
Ревень в больших дозах  
Салол  
Сенна  
Скипидар  
Сульфонал  
Трионал  
Хинин в больших дозах

д) Проба с фенилгидразином. Очень чувствительной и в то же время специфической пробой на сахар является реакция с фенилгидразином. В пробирку или в маленькую колбочку вносят 0,5 г солянокислого фенилгидразина и 1 г уксуснокислого натрия и отмеривают 5—8 см<sup>3</sup> мочи; щелочную мочу предварительно подкисляют уксусной кислотой. Если соли не полностью растворились, приливают небольшое количество воды. Помещают пробирку в водяную баню на 30—60 минут, часто встряхивая, после чего переносят в холодную воду. Или же отмеривают 5 капель чистого фенилгидразина и 10 капель ледяной уксусной кислоты, взбалтывают и прибавляют 15 см<sup>3</sup> насыщенного раствора хлористого натрия; к образовавшейся кашицеобразной массе приливают около 10 см<sup>3</sup> мочи и осторожно кипятят не менее 2 минут (лучше на водяной бане); при остывании выпадает кристаллический осадок фенилглюкозазона в виде золотистых иголок, сложенных в снопы. Если выпал аморфный осадок, его отфильтровывают, растворяют на фильтре горячим 96° спиртом, прибавляют к фильтрату немного воды и удаляют спирт осторожным нагреванием, причем выпадают кристаллы. Необходимо исследовать осадок под микроскопом при 200—300-кратном увеличении, так как коричнево-желтый осадок другого вида не говорит о присутствии сахара. При малом количестве сахара осадок выпадает только спустя несколько часов. Положительный результат получается в присутствии 0,05% сахара. Вследствие своей относительной сложности эта проба обычно применяется только в том случае, если другие реакции дают неясный результат (см. выше).

е) Проба с брожением. Пробирку или бродильный аппарат (рис. 112) наполняют мочой, к которой прибавлено немного дрожжей. Опрокидывают пробирку в сосуд, наполненный тоже мочой, и ставят в теплое место. Под влиянием дрожжей сахар бродит; образовавшаяся



углекислота скапливается в верхней части пробирки. Брожение заканчивается в течение 18—24 часов. Для проверки доброкачественности дрожжей ставят две контрольные бродильные пробирки: в одной — нормальная моча, смешанная с дрожжами, в другой — заведомо содержащая глюкозу моча с дрожжами. В последней пробирке должно быть брожение, в первой — нет.

Моча должна быть слабокислой реакции; щелочную мочу подкисляют виннокаменной кислотой, а слишком кислую — слегка подщелачивают содой. Перед прибавлением дрожжей мочу кипятят, чтобы уничтожить бактерии, которые тоже разлагают сахар. Проба должна находиться в теплом месте не дольше 24 часов, так как позднее может начаться неспецифическое брожение.

Прием препаратов салициловой кислоты и даже применение снаружи салициловой мази задерживают брожение. После приема хлоралгидрата моча не бродит, даже если в нее прибавлена декстроза. Арбутин также задерживает брожение.

Этой пробе можно придать грубо ориентировочное количественное значение: к 120 см<sup>3</sup> содержащей сахар мочи прибавляют кусок прессованных дрожжей величиной с грецкий орех и помещают все в бутылку, вмещающую в 3 раза больше жидкости. В другую бутылку наливают ту же мочу, не прибавляя дрожжей; ставят обе бутылки в теплое место. По истечении 18—24 часов измеряют удельный вес той и другой порции: разность между удельным весом мочи во второй и в первой бутылки, умноженная на 0,23, соответствует содержанию сахара в 100 см<sup>3</sup> мочи.

Пример:  $(1\ 040 - 1\ 020) \times 0,23 = 4,6$  (‰ сахара).

2) Количественное определение. а) С помощью поляризационного аппарата. Количественное определение сахара производится либо

титрованием, либо посредством поляризационного аппарата (сахариметра). Последний способ достаточно точен и требует очень мало времени, так что всюду, где есть соответствующий прибор, он должен получить применение. Для исследования мочи наиболее удобен полутеневой аппарат, или сахариметр, с которым можно работать и при дневном свете.

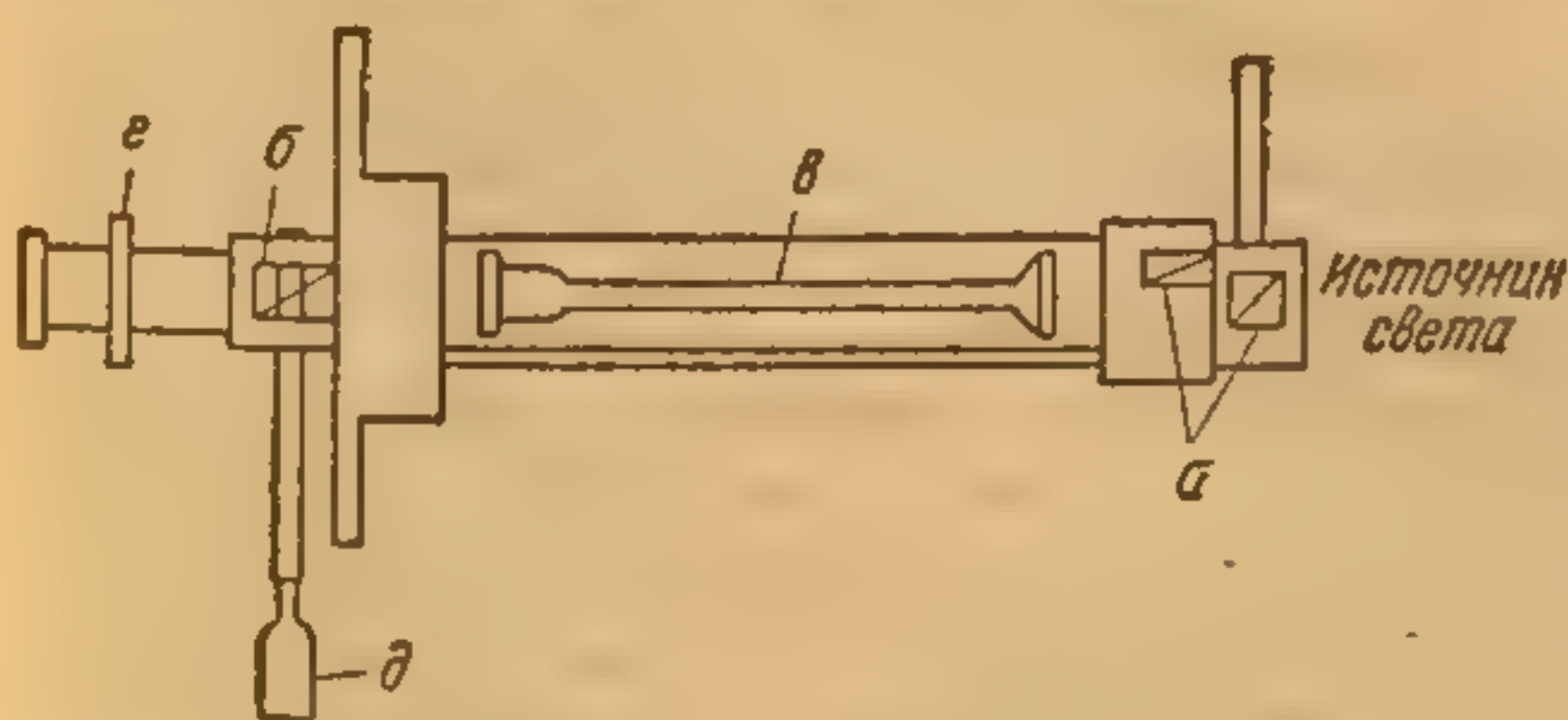


Рис. 113. Схема поляриметра.

а — призма поляризатора; б — призма анализатора; в — трубка с раствором; г — установка на фокусе; д — ручка для вращения анализатора.

В основе устройства поляриметра (рис. 113) лежит получение поляризованного луча при прохождении света через призму из исландского шпата (а) — поляризатор. Поляризованный луч встречает на своем пути оптически активное вещество, которое изменяет плоскость колебания луча на определенный угол, вследствие чего интенсивность света, наблюдаемого в окуляре, изменяется. В приборе имеется другая призма из исландского шпата — анализатор (б), поворотом которой можно снова повернуть луч и восстановить освещение. Поворот призмы-анализатора отмечается в градусах на шкале. Величина поворота прямо пропорциональна концентрации сахара.



Рис. 112. Аппарат для брожения.



Поляриметр для определения сахара устроен таким образом, что вместо градусов получают проценты сахара (при определенной длине трубки, куда наливают испытуемое вещество).

**Определение.** При определении вращения плоскости поляризации пользуются только прозрачными и по возможности бесцветными растворами. Это достигается обработкой испытуемого раствора различными адсорбирующими веществами (например, животный уголь, гидрат окиси алюминия и др.), не влияющими на оптическую активность раствора. Определение начинают с установки нулевой точки прибора. Для этого в трубку наливают чистую воду, закрывают стеклом, навинчивают крышку так, чтобы не было пузырьков воздуха, и наводят на источник света (натриевый свет или свет от электрической матовой лампочки). Вращая трубку окуляра, устанавливают его фокус по глазам, так, чтобы обе половины поля, видимого в окуляр, были одинаково интенсивно освещены,

а разделяющая их вертикальная линия была четко видна. Это и будет нулевая точка прибора, причем нуль диска или шкалы должен совпадать с нулем нониуса (рис. 114.А).

Если нулевая точка прибора лежит выше нуля диска или слева от нуля шкалы, то эту величину при анализе испытуемых растворов, например, вращающихся вправо, прибавляют к полученному числу градусов; если же нулевая точка находится ниже  $0^\circ$  или справа от нуля шкалы, то эту величину вычитают. Исследуемая в поляризационном аппарате моча должна

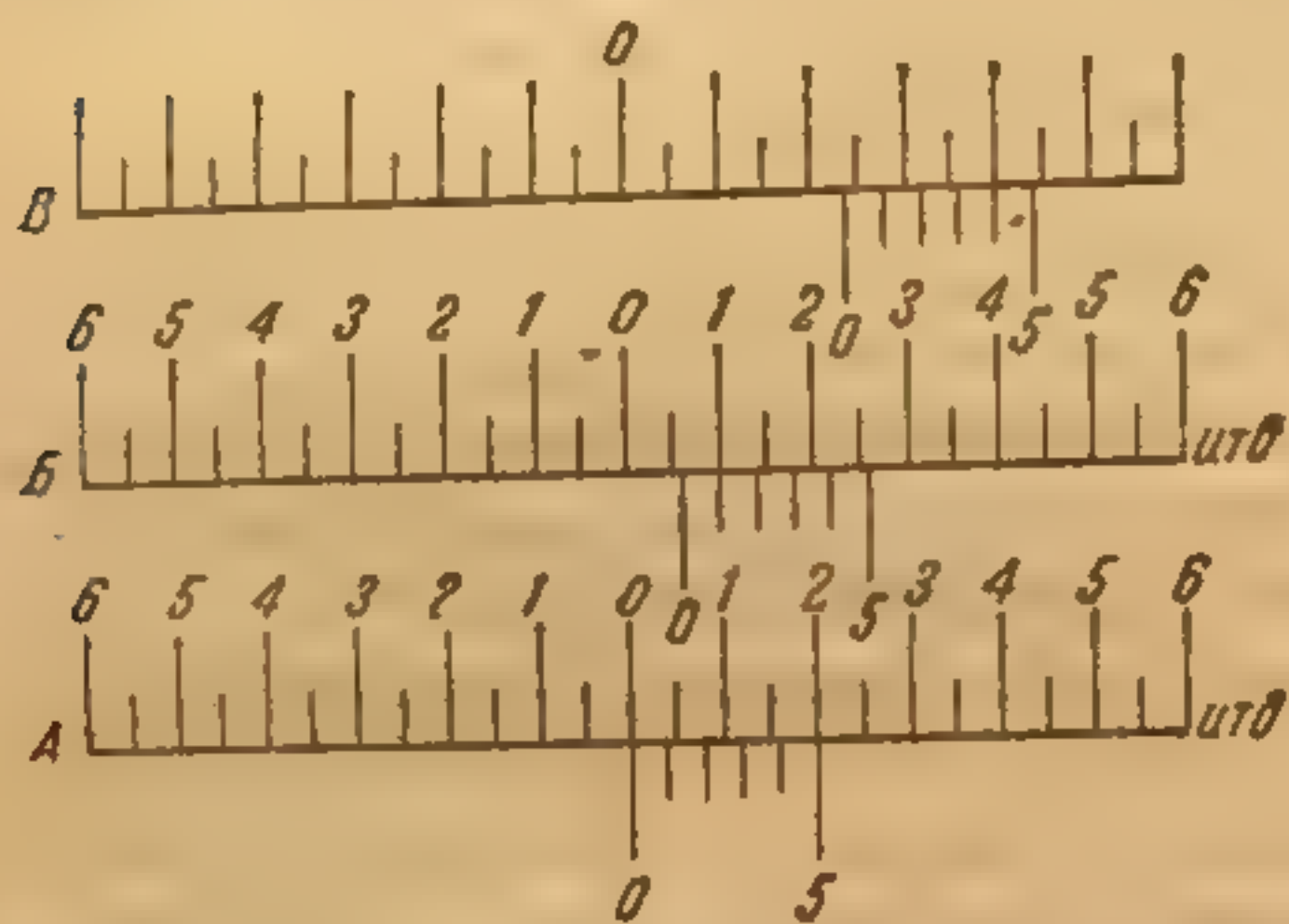


Рис. 114. Шкала и нониус поляризационного сахариметра. А — сахара нет; Б —  $0,60\%$ ; В —  $2,40\%$ .

быть прозрачна и по возможности бесцветна. Диабетическую мочу в большинстве случаев можно исследовать после простого или повторного (через тот же фильтр) фильтрования. Если моча имеет щелочную реакцию и в ней выпали фосфаты, то их растворяют, прибавляя к моче несколько капель ледяной уксусной кислоты. Если же она все же недостаточно прозрачна или слишком пигментирована, то ее разбавляют пополам дистиллированной водой или фильтруют сквозь инфузорную землю (около чайной ложки порошка насыпают непосредственно на фильтр и наливают мочу), или же всыпают в мочу немного свинцового сахара и фильтруют через сухой фильтр в сухую пробирку. Пробирка, воронка и трубка поляризационного аппарата при работе с уксуснокислым свинцом должны быть сухими или же их следует ополоснуть дистиллированной водой, так как в присутствии водопроводной воды тотчас же получается муть. Моча должна быть кислая, так как в щелочной моче свинец осаждает сахар; если нужно, ее подкисляют несколькими каплями уксусной кислоты. Первые капли, если они мутные, отбрасывают. Если моча настолько пигментирована, что и свинцовый сахар ее не обесцвечивает, то ее взбалтывают с животным углем и фильтруют; фильтрат получается совершенно бесцветным, но животный уголь связывает небольшое количество сахара. Чтобы предупредить адсорбцию сахара на угле, к моче прибавляют спирт в количестве  $2 \text{ см}^3$  на  $18 \text{ см}^3$  мочи; после этого прибавляют уголь и фильтруют; в фильтрате определяют количество сахара и полученный результат умножают на  $10/9$ .



Мочу, содержащую белок, необходимо освободить от него кипячением, так как белок вращает плоскость поляризации влево. Если белка относительно немного, то можно ограничиться следующей поправкой: к найденному количеству сахара прибавляют столько десятых частей процента, сколько белка содержится в  $1000 \text{ см}^3$  мочи (т. е. принимают, что  $0,1\%$  сахара соответствует  $1\%$  белка). Малыми количествами белка, менее  $1\%$ , можно, следовательно, совсем пренебречь. Поэтому можно также разбавить мочу, содержащую много белка, равным количеством  $10\%$  раствора уксуснокислого свинца и профильтровать с указанными выше предосторожностями: фильтрат содержит только следы белка, не изменяющие результата определения; полученное количество умножают на 2 (разведение).

Подготовленную тем или иным образом мочу вливают в трубку поляризационного аппарата (трубка должна быть чисто вымыта и ополоснута исследуемой мочой). Если мочи достаточно и если удастся сделать ее прозрачной и светлой, то пользуются наиболее длинной из приложенных к аппарату трубок. Точная длина ее  $18,97 \text{ см}$ ; именно при этой длине угол вращения, определяемый по шкале, непосредственно указывает концентрацию сахара в процентах. Если моча прозрачна, но недостаточно обесцвечена, то вместо того, чтобы пользоваться указанными выше способами обесцвечивания ее, можно прибегнуть ко второй трубке, которая вдвое короче первой. Полученный результат придется умножить на 2; следовательно, каждая неточность, могущая произойти при определении, тоже окажется увеличенной вдвое и даст уже заметную ошибку. Однако при обработке мочи тоже легко вкрадываются ошибки, так что пользование этой трубкой все же оправдывается. Третьей трубкой, вчетверо более короткой, чем первая, пользуются только в том случае, если имеется мало мочи и другого выхода нет. После наполнения мочой в трубке не должно оставаться пузырьков воздуха; для этого мочи наливают столько, чтобы она образовала высокий куполок, и надвигают стекло сбоку, держа его горизонтально и срезая им куполок мочи. Если трубка с одного конца расширена, то оставшийся небольшой пузырек воздуха можно перегнуть в это расширение так, чтобы он не находился на пути луча. Наполненную трубку кладут в аппарат. Точно устанавливают фокус, чтобы обе половины круга были видны совершенно одинаково.

В отсутствие мочи обе половины круга должны быть освещены совершенно одинаково и нуль шкалы (верхней измерительной линейки с крупными делениями) должен точно совпадать с нулем нониуса (нижняя линейка с меньшими делениями). Если совпадения нет, то, не изменяя положения призмы, особым ключиком, приложенным к аппарату, перемещают положение линейки так, чтобы оба нуля совпали. После этого вставляют трубку с мочой. Если моча содержит глюкозу — правовращающее вещество, то правая половина круга окажется более темной — темнее, чем больше отклонен луч, т. е. чем выше концентрация сахара. Опять точно устанавливают фокус. Вращают винт, пока не будет вновь достигнуто совершенно равномерное освещение обеих половин круга. Смотрят на шкалу и нониус — на сколько делений шкалы нуль нониуса отошел вправо от нуля шкалы. Эти деления обозначают целые проценты (в некоторых аппаратах целые и половины). После этого определяют положение нуля нониуса более точно: устанавливают, которое по счету из делений нониуса вправо от нуля нониуса совпадает с каким-либо из делений шкалы. Количество делений нониуса вправо от нуля нониуса будет указывать на число десятых долей процента сверх того целого числа, которое было установлено по делениям шкалы. Соответствующий рисунок (рис. 114, Б и В) уясняет этот подсчет.



По окончании работы тотчас снимают с трубки обе крышки, так как впоследствии это иногда уже трудно сделать, и тщательно ополаскивают и высушивают все части.

В присутствии левовращающих веществ ( $\beta$ -оксимасляной кислоты, парных глюкуроновых кислот) способ этот не совсем точен. Чтобы убедиться, что моча таких веществ не содержит, дают ей перебродить с дрожжами и исследуют на вращение влево.

Количественное определение сахара в моче посредством поляризационного сахариметра даст вполне удовлетворительные результаты, отнимает очень мало времени и не включает особых источников ошибок, если работать сколько-нибудь аккуратно. Однако прибор этот имеется далеко не во всех лабораториях, поэтому мы приводим способ определения сахара посредством титрования.

б) Способ Бенедикта. Принцип реакции тот же, что и при качественном определении.

Реактивы. 200 г кристаллического (или 100 г безводного) углекислого натрия, 200 г лимоннокислого натрия или калия и 125 г роданистого калия растворяют при нагревании в таком количестве воды, чтобы получилось около 800 см<sup>3</sup> раствора; фильтруют в мерную колбу емкостью в 1 л. Отдельно растворяют точно отвешенные 18 г чистой кристаллической сернокислой меди ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) приблизительно в 100 см<sup>3</sup> воды и медленно, все время помешивая, вливают этот раствор в первый. К смеси прибавляют 5 см<sup>3</sup> 5% раствора железистосинеродистого калия (желтой кровяной соли). По охлаждении доводят дистиллированной водой до метки. Точного отвешивания требует только сернокислая медь, а также приготовление раствора глюкозы, по которому реактив стандартизируют. 25 см<sup>3</sup> приготовленного описанным образом реактива восстанавливаются 0,05 г глюкозы. Его стандартизируют по раствору глюкозы (1%) точно так же, как ниже будет указано относительно определения сахара в моче. Если в растворе образуется красный осадок, то он непригоден. Это большей частью зависит от недостаточно хорошего качества железистосинеродистого калия, который в этом случае надо прибавить в небольшом избытке.

Оборудование. Точная бюретка емкостью в 5 или 10 см<sup>3</sup>. Эрленмейеровские колбочки емкостью 100 или 150 см<sup>3</sup> с широким горлышком или, лучше, фарфоровые чашечки.

Ход определения. Моча не должна содержать более 1% сахара, в противном случае ее разводят соответствующим образом. Приблизительное суждение о концентрации сахара в исследуемой моче нетрудно себе составить по результату качественного определения по Бенедикту (стр. 316). Разведенную, если нужно, мочу наливают в бюретку. В эрленмейеровскую колбочку отмеривают 25 см<sup>3</sup> реактива и прибавляют около 15 г кристаллического углекислого натрия (или половинное количество безводного препарата) и немного талька или порошкообразной пемзы (во избежание вспенивания). Нагревают на голом огне до кипения и поддерживают интенсивное кипение в течение всего титрования. Когда вся сода растворится, приступают к титрованию. Приливают мочу, сначала быстро, затем, когда появляется беловатый осадок и окраска раствора начинает бледнеть, медленно, по каплям, пока совершенно не исчезнет синее окрашивание. Между двумя добавлениями мочи нужно каждый раз выждать около 30 секунд. Раствор все время должен кипеть; если выкипело слишком много жидкости, добавляют соответствующее количество горячей воды. Конец титрования определяется в горячем растворе; если по охлаждении вновь появляется голубовато-зеленоватое окрашивание, это не



принимается во внимание. Необходимо помнить, что при титровании мочи в отличие от растворов чистой глюкозы не достигается полной бесцветности раствора: он остается желтовато-зеленоватым, даже когда вся медь полностью восстановлена (мочевые пигменты).

Вычисление. Из сказанного выше ясно, что в потраченном при титровании количестве разведенной мочи содержится 0,05 г глюкозы. Учитывают степень разведения мочи и приводят к 100 см<sup>3</sup> (выражают в процентах) или к суточному объему мочи (выражают в граммах за сутки):

$$\text{Грамм глюкозы в 100 см}^3 \text{ мочи} = \frac{0,05 \times 100}{\text{Количество кубических сантиметров неразбавленной мочи, содержащейся в потраченном количестве разбавленной мочи}}$$

Пример. За сутки выделено 2 200 см<sup>3</sup> мочи; для титрования она была разбавлена в 10 раз. На обесцвечивание реактива пошло 6,4 см<sup>3</sup> разведенной мочи. Отсюда  $\frac{0,05}{0,64} \times 100 = 7,8$  г глюкозы в 100 см<sup>3</sup> мочи, или 7,8%, а в суточной моче выделено  $7,8 \text{ г} \times 22 = 172,6$  г глюкозы. Этим способом можно определять сахар в моче, если его содержание не менее 0,2%.

в) Упрощенное количественное определение сахара. Реактивы: 1) видоизмененный реактив Бенедикта содержит в 1 л дистиллированной воды 16,1 г сернистой меди, 161 г лимоннокислого натрия и 93 г безводного углекислого натрия; его концентрация соответствует 93% обычного реактива, применяемого для качественного определения. Раствор этой концентрации имеет то преимущество, что как раз обесцвечивается 2% раствором глюкозы при 5-минутном кипячении, тогда как в обычном растворе при этих условиях 7% меди остаются невосстановленными и придают раствору голубоватый оттенок. Способ изготовления реактива такой же, как реактива для качественного определения; 2) растворы глюкозы 3, 4, 5, 6, 8 и 10%. Из них готовят серию стандартных пробирок. В 6 пробирок отмеривают по 5 см<sup>3</sup> реактива (1) и по 0,5 см<sup>3</sup> раствора глюкозы возрастающей концентрации. Кипятят в водяной бане точно 5 минут, вынимают, фильтруют и запаивают или закупоривают пробками.

Ход определения. В 2 пробирки отмеривают по 5 см<sup>3</sup> реактива (1) и прибавляют в первую 0,5 см<sup>3</sup>, во вторую 0,1 см<sup>3</sup> мочи; во втором случае пользуются микропипеткой. Кипятят в водяной бане точно 5 минут; при более продолжительном кипячении получаются более высокие цифры сахара; фильтруют. Если в первом фильтрате сохранился синеватый оттенок, пользуются им и сравнивают его с серией стандартных пробирок; если он бесцветен или желтоват, для сравнения берут вторую пробирку. Количество сахара в процентах видно из табл. 43.

Таблица 43

	Номера стандартных пробирок					
	1	2	3	4	5	6
Процент глюкозы при работе с пробиркой, содержащей 0,5 см <sup>3</sup> мочи . . . . .	0	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0
Процент глюкозы при работе с пробиркой, содержащей 0,1 см <sup>3</sup> мочи . . . . .	0,14	2,6	4,4	6,3	8,1	10,0

Способ менее точен, чем предыдущий, но по своей простоте и быстроте выполнения доступен каждой лаборатории.



г) Количественное определение сахара по способу Альтгаузена. 4 см<sup>3</sup> мочи смешивают с 1 см<sup>3</sup> 10% раствора едкой щелочи и кипятят в пробирке в течение 1 минуты. Через 10 минут определяют, какой окраске на цветной таблице (см. рис. 115) соответствует полученный цвет жидкости в пробирке. Для этого пробирку ставят на кружочек окрашенной полоски таблицы и устанавливают, какой полосе соответствует цвет жидкости. Процентное содержание сахара обозначено на каждой окрашенной полоске. Полученный цвет жидкости может быть интенсивнее цвета одной какой-либо полоски таблицы, но слабее следующей полоски; тогда содержание сахара будет средней величиной между обозначенными на этих полосках.

При содержании сахара более 4% мочу можно развести водой в 2—3 и более раз и уже с разведенной жидкостью произвести определение, как указано выше; полученное число надо умножить на степень разведения.

Можно также делать стандартные разведения глюкозы в моче следующим образом. Берут 1 г глюкозы и разводят в 25 см<sup>3</sup> мочи, не содержащей сахара; далее из этого раствора готовят следующие разведения:

3 см <sup>3</sup> раствора	+	1 см <sup>3</sup> мочи (не содержащей сахара)	
2 »	»	+ 2 »	»
1,5 »	»	+ 2,5 »	»
1 »	»	+ 3 »	»
0,5 »	»	+ 3,5 »	»

Во все эти пробирки прибавляют по 1 см<sup>3</sup> едкой щелочи; все пробирки нагревают одновременно с испытуемой мочой и сравнивают. Колориметрирование испытуемой мочи с этими шкалами производится легче, чем с цветной таблицей, и дает более точные результаты.

Таким образом, получают, помимо 4% раствора, 3%, 2%, 1,5%, 1% и 0,5% растворы глюкозы в моче.

д) Диагностическое значение глюкозурии, несомненно, велико: хотя оно не всегда означает диабет, все же у вполне здоровых лиц сахар в моче обнаруживается весьма редко, притом в весьма небольшом количестве и как исключение. Необходимо поэтому, получив в моче положительную пробу на сахар и убедившись, что это действительно глюкоза, а не лактоза (см. ниже «Молочный сахар») или какое-либо другое восстанавливающее вещество, проверить, имеется ли постоянная или только преходящая глюкозурия, исследуя повторно мочу, выделенную натощак, а также после еды. Случайная глюкозурия может быть алиментарного происхождения; в этом случае, если только не было специальной сахарной нагрузки, имеется понижение так называемого «сахарного порога», т. е. соотношения между концентрацией сахара в крови и выделением его в моче. Этот сахарный порог хотя и колеблется у различных лиц и даже у одного и того же лица в значительных пределах вокруг обычно указываемой величины в 180 мг%, все же, как правило, достаточно высок, чтобы при обычном питании моча не содержала сахара в количестве, обнаруживаемом описанными выше реакциями. Далее, необходимо исследовать сахар крови, так как при всех расстройствах углеводного обмена это исследование имеет большее диагностическое значение, чем определение сахара в моче (см. соответствующую главу; там же о диагностическом значении глюкозурии во время сахарной нагрузки).



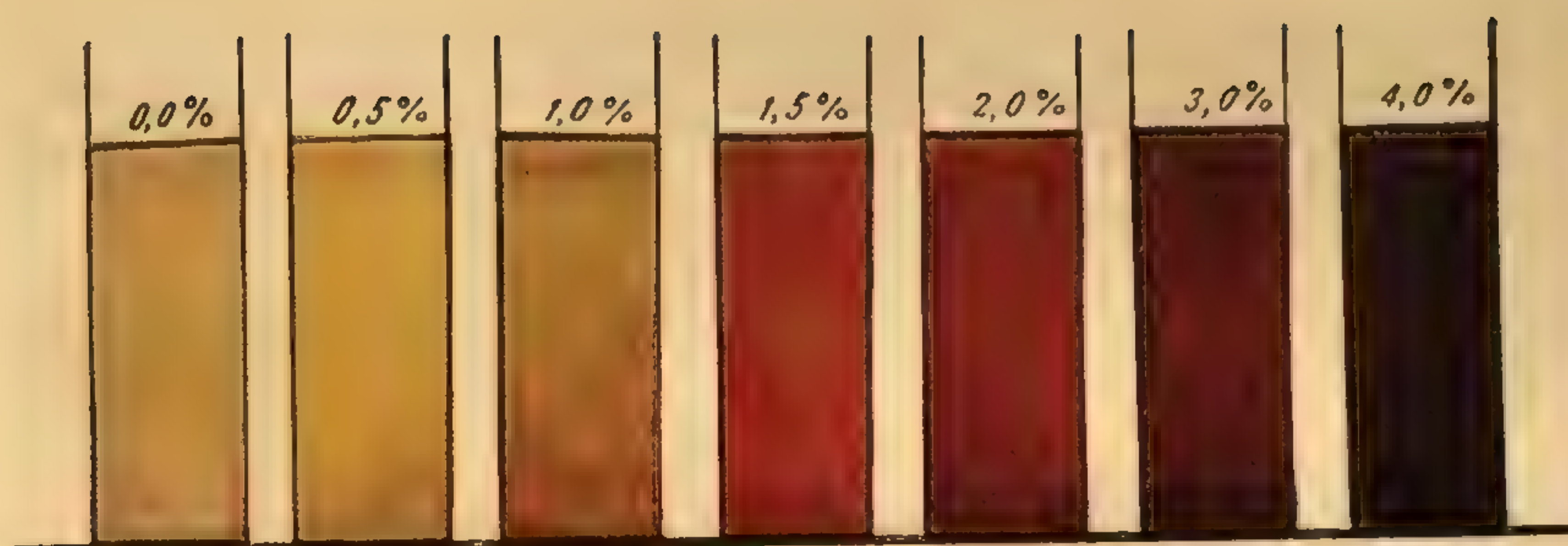


Рис. 115. Шкала сахариметра Альтгаузена.



# ФРУКТОВЫЙ САХАР

Фруктовый сахар — это натуральный сахар, который содержится в фруктах и ягодах. Он отличается от обычного сахара тем, что содержит меньше калорий и не вызывает резкого скачка сахара в крови. Фруктовый сахар можно использовать в качестве подсластителя в различных блюдах и напитках. Он также может быть полезен для людей, страдающих диабетом, так как он не вызывает резкого скачка сахара в крови. Фруктовый сахар можно найти в магазинах здорового питания или в аптеках. Он также можно приготовить самостоятельно из фруктов и ягод.

Отделенные левулезы в печени посредством введения ее натощак на порцию печеночной железы, желчного протока. Левулезы больше, и левулезы в 75—100 г. При циррозе печени дегенеративных процессов при даче 100 г левулез.

## МОЛОЧНЫЙ САХАР

Молочный сахар дает темную окраску при вращении в растворе. Он не кристаллизуется, но при брожении являлся в виде этанола и углекислого газа.



## ФРУКТОВЫЙ САХАР (ЛЕВУЛЕЗА)

а) Качественное определение. Моча, содержащая левулезу, дает все реакции на виноградный сахар, но вращает плоскость поляризации влево. Так как левулеза большей частью встречается одновременно с глюкозой, то этого вращения влево обнаружить не удастся. Поэтому приходится для качественного определения прибегать к специальной реакции Селиванова, основанной на том, что фруктовый сахар дает при нагревании с разведенной соляной кислотой и резорцином красное окрашивание с выпадением осадка; осадок растворим в спирте, причем последний окрашивается в красный цвет. Реакцию необходимо выполнять очень точно и осторожно оценивать ее результаты, так как при слишком длительном нагревании, а также в присутствии нитритов тоже получается красное окрашивание. Рекомендуется выполнять ее в следующем видоизменении: к 2 частям свежес выпущенной, не содержащей белка мочи кислой реакции (в щелочной моче небольшое количество фруктозы может образоваться из глюкозы) приливают 1 часть 36% соляной кислоты, кипятят 20 секунд для удаления азотистой кислоты и разливают горячую жидкость поровну в две пробирки. Одна из них служит для сравнения с красным окрашиванием, которое дает соляная кислота. В другую прибавляют немного (на кончике ножа) резорцина и вновь нагревают обе пробирки, давая им только вскипеть. В присутствии резорцина жидкость окрашивается в характерный красный цвет с последующим выпадением осадка, легко растворимого в спирту. Характерный оттенок окраски, образующийся в присутствии уже небольшого количества левулезы, легко распознается даже при небольшом опыте.

б) Количественное определение левулезы возможно посредством поляризационного сахариметра (см. «Количественное определение глюкозы»). Левулеза вращает влево; число, отсчитанное на шкале, нужно умножить на 0,54 ( $1^\circ$  вращения = 54 г левулезы). Само собой разумеется, что моча не должна содержать глюкозу; в сахарной моче количество левулезы точно определить трудно; приходится основываться на разности результатов, полученных при титрометрическом и поляриметрическом определении.

в) Диагностическое значение. Левулеза иногда встречается в моче вследствие аномалии обмена или совместно с глюкозой при диабете.

Определение левулезы в моче производится также при испытании функции печени посредством нагрузки левулезой. Появление левулезы в моче при введении ее натошак в количестве 25—50 г (в мол-ке) указывает на поражение печеночной паренхимы (различные формы желтухи). При закрытии желчного протока новообразованием толерантность к левулезе обычно больше, и левулезурия обнаруживается только при нагрузке в 75—100 г. При циррозах печени результат пробы зависит от преобладания дегенеративных или же регенеративных процессов. У здоровых при даче 100 г левулезы она в моче появляется редко.

## МОЛОЧНЫЙ САХАР (ЛАКТОЗА)

Молочный сахар дает те же реакции восстановления, как и глюкоза, и также вращает плоскость вправо, но не бродит (если только проба с брожением продолжается не больше 18 часов), поэтому исследование путем брожения является наилучшим способом для отличия молочного сахара от виноградного.



а) Качественное определение производится следующим образом: к 10 см<sup>3</sup> мочи, налитой в пробирку, прибавляют 3 капли аммиака и 4—5 капель раствора свинцового сахара и переносят пробирку в водяную баню. Выпадает белый осадок, который в присутствии лактата остается белым, тогда как в присутствии глюкозы он принимает охряно-желтый или красный цвет (цвет мясных помоев). Проба мало чувствительна: она открывает молочный сахар только при концентрации в 0,3—0,5%.

По Мальфатти, молочный сахар определяют следующей реакцией: к 5 см<sup>3</sup> мочи приливают около половины этого количества аммиака (не слабее чем 10%) и около 5 капель едкого кали и нагревают в горячей, но не кипящей водяной бане. В присутствии молочного сахара появляется красное окрашивание, если содержание его не превышает 0,2%, то оно наблюдается только минут через 10, если его больше, то уже через 5 минут.

Виноградный сахар дает в этих условиях красно-коричневое или коричневое окрашивание в зависимости от его количества. Если содержание глюкозы в моче не превышает 1%, то оно не отражается на ходе реакции.

б) Количественное определение молочного сахара возможно посредством поляризационного аппарата, но только при отсутствии других видов сахара. Найденную для виноградного сахара величину надо умножить на 0,947.

в) Диагностическое значение. Молочный сахар встречается иногда в моче беременных и кормящих. Поскольку во время беременности иногда в моче появляется и глюкоза, вследствие особенностей углеводного обмена у беременных или как проявление латентного до тех пор диабета, весьма важно убедиться в том, что имеется действительно не представляющая собой ничего патологического лактозурия, а не глюкозурия.

## ГАЛАКТОЗА

Галактозу определяют качественно и количественно так же, как глюкозу. При определении как титрометрически, так и в поляризационном сахариметре результат должен быть умножен на 0,87.

Галактозу приходится определять в моче при нагрузке галактозой для испытания функции печени (см. стр. 522).

## ПЕНТОЗА

Пентоза не бродит и оптически недеятельна; реакцию восстановления дает после продолжительного кипячения. Открытие ее в моче производится посредством реакции Крафта.

Реактив. 1 г орцина растворяют в 500 см<sup>3</sup> соляной кислоты удельного веса 1,151 и прибавляют 20 капель 10% раствора полуторахлористого железа. Реактив нужно готовить точно по прописи, так как избыток железа плохо отражается на результате реакции, и хранить в темной хорошо закупоренной склянке.

Ход определения. В пробирку отмеривают 5 см<sup>3</sup> реактива и нагревают до кипения. Снимают с пламени и тотчас приливают 5 капель мочи, но не больше, чтобы избежать охлаждения жидкости. Почти тотчас появляется зеленое окрашивание в верхней части жидкости, распространяющееся книзу. Появление зеленого окрашивания указывает на при-



сутствие пентозы. При встряхивании с амиловым спиртом последний окрашивается в зеленый цвет и дает в спектро스코пе характерную полосу поглощения между С и D; в начале красного цвета часто видна вторая полоса (см. стр. 334).

Пентозу можно обнаружить в моче у совершенно здоровых лиц после введения некоторых лекарств (камфоры, хлоралгидрата) и после употребления в пищу некоторых фруктов, например, вишен, слав, черной смородины (алиментарная пентозурия). Кроме того, описано своеобразное расстройство обмена — хроническая пентозурия, не имеющее ничего общего с диабетом. В то же время небольшое количество пентозы выделяется с мочой и при тяжелых формах сахарной болезни.

## АЦЕТОНОВЫЕ ТЕЛА И $\beta$ -ОКСИМАСЛЯНАЯ КИСЛОТА

В отношении обнаружения в моче ацетоновых тел во многих руководствах имеется указание, что нитропруссидный натрий открывает ацетон, а ацетоуксусная кислота открывается другими реактивами. Вследствие этого еще и в настоящее время в протоколах исследования мочи нередко можно прочесть, что ацетон имеется, а ацетоуксусной кислоты нет. Подобный ответ неправилен в двух отношениях. Во-первых, ацетон и ацетоуксусная кислота всегда встречаются в моче совместно. Моча, содержащая ацетоновые тела, всегда содержит и ацетон, и ацетоуксусную кислоту, причем последней обычно в 2—3—9 раз больше, чем ацетона. Так как при стоянии ацетоуксусная кислота разлагается с образованием ацетона, то в свежесобранной моче это соотношение сдвинуто в сторону последних цифр, так как ацетона еще относительно мало. Во-вторых, реакция с нитропруссидным натрием дает положительный результат в первую очередь не с ацетоном, а с ацетоуксусной кислотой. Нитропруссидный натрий значительно чувствительнее к ацетоуксусной кислоте, чем к ацетону: последний обнаруживается нитропруссидным натрием только при концентрации 1:1000, а в таком количестве преформированный ацетон вряд ли когда-либо выделяется с мочой. Резко положительная реакция с нитропруссидным натрием указывает на то, что моча содержит много ацетоуксусной кислоты, а также ацетон. Для того чтобы открыть именно ацетон, следует пользоваться специальными пробами. Раздельное определение ацетона и ацетоуксусной кислоты, однако, вряд ли действительно необходимо лечащему врачу. Существенно важно определить наличие в моче ацетоновых тел и иметь возможность в положительном случае грубо судить о количестве их. Для этой цели достаточно совместного определения ацетоуксусной кислоты и ацетона и реакции Герхардта на ацетоуксусную кислоту.

1) **Пробы для открытия ацетоуксусной кислоты и ацетона.** а) **Проба Ланге.** К 12—15 см<sup>3</sup> мочи ( $\frac{3}{4}$  пробирки) прибавляют около 1 см<sup>3</sup> ледяной (99%) или 80% уксусной кислоты и около 0,5 см<sup>3</sup> свежеприготовленного 10% раствора нитропруссидного натрия, после чего осторожно наслаивают 2 см<sup>3</sup> концентрированного аммиака. В присутствии ацетоуксусной кислоты в месте соприкосновения жидкостей образуется фиолетовое кольцо. Если ацетоуксусной кислоты мало, оно появляется не сразу; при стоянии оно постепенно исчезает. Ацетон дает ту же реакцию, но во много раз слабее, чем ацетоуксусная кислота.

Плохо очищенные препараты уксусной кислоты содержат ацетон (испытание: нечистая уксусная кислота при разведении ее водой не дает прозрачного раствора). Возможно, что при высокой концентрации этот ацетон уксусной кислоты может симулировать ацетонурию. Поэтому, если



нет хорошей уксусной кислоты, производят реакцию, приливая реактивы в обратном порядке: к моче прибавляют несколько капель нитропруссидного натрия и 10 капель 10% раствора едкого кали или натра; появляется красное окрашивание, зависящее также от присутствия креатинина. Приливают 15—20 капель ледяной уксусной кислоты: нормальная моча при этом обесцвечивается, а при наличии ацетоновых тел окраска не исчезает, а только приобретает фиолетовый оттенок (проба Легала). После приема слабительных, содержащих алоэ или же фенолфталеин, получается похожее окрашивание.

Так как водные растворы нитропруссидного натрия очень нестойки, то предложено много различных прописей этого реактива, чтобы сделать определение ацетоновых тел более простым и дешевым. Самый простой способ, экономящий время лаборанта, — это отвесить заранее некоторое количество порошков по 0,5 г или меньше нитропруссидного натрия и по мере надобности растворять порошок в соответствующем количестве воды. Удобно также, в особенности в тех лабораториях, где реакция на ацетоновые тела производится редко, заготовить смесь из 1 части (по весу) порошкообразного нитропруссидного натрия и 100 частей сернокислого аммония и растереть в ступке до получения однородного порошка. Эта смесь неограниченно стойка. К 5 см<sup>3</sup> мочи прибавляют около 1 г этой смеси, взбалтывают, наклоняют около 2 см<sup>3</sup> аммиака. Дальше — как при реакции Ланге.

б) **Проба Либена (видоизмененная).** К 3 см<sup>3</sup> мочи приливают 1,5 см<sup>3</sup> 10% едкого натра; образовавшийся осадок отфильтровывают; к фильтрату прибавляют равное количество приблизительно п/10 раствора иода (люголевский раствор содержит слишком мало иода): в присутствии ацетона уже спустя 1/2—3/4 минуты появляется муть, в то время как в нормальной моче образуется только легкая опалесценция. Положительная реакция получается уже в присутствии 0,05 г ацетоновых тел в 1 л мочи; при более высокой концентрации моча сразу становится совершенно мутной. Спирт дает помутнение только спустя более продолжительный срок, поэтому необходимо внимательно следить за моментом появления реакции.

2) **Определение ацетона.** Специфической для ацетона из известных в настоящее время может считаться только реакция с паранитрофенилгидразином. Этот реактив образует с альдегидами и кетонами трудно растворимые и хорошо кристаллизующиеся паранитрофенилгидразины. Около 0,025 г паранитрофенилгидразина растворяют в разведенной уксусной кислоте при нагревании на маленьком пламени и охлаждают под краном; если выпали кристаллики, отфильтровывают их сквозь маленький фильтр. На предметном или покровном стекле делают вазелином тонкое кольцо и помещают в середину его каплю фильтрата. В маленький стаканчик помещают около 4 см<sup>3</sup> мочи, накрывают приготовленным стеклом так, чтобы капля реактива была обращена внутрь стаканчика, и погружают стаканчик в сосуд с водой, нагретой до 40°. Верхний край стаканчика должен выступать из воды приблизительно на 5 мм. Наблюдают за образованием кристаллов, стараясь уловить момент их появления; лучше пользоваться при этом лупой. При содержании ацетона в моче в количестве 0,1% уже в течение первой минуты появляется большое количество кристаллов; если ацетона содержится 0,01%, то они появляются через 10—15 минут; если его только 0,005% — то спустя 20—25 минут.

Такую же реакцию дает редко встречающийся в моче ацетальдегид. Больной не должен принимать уротропин, так как в этом случае образуются кристаллы формальдегид-паранитрофенилгидразина.



**3) Определение ацетоуксусной кислоты.** а) Проба Герхардта. Наливают около половины пробирки свежесброженной мочи и прибавляют по каплям 10% раствор полутрахлористого железа, пока не прекратится образование осадка фосфатов. Фильтруют и к фильтрату прибавляют еще того же реактива или наливают реактив в пробирку и настилают на него фильтр. В присутствии ацетоуксусной кислоты получается виннокрасное окрашивание. Такое же окрашивание дают, однако, препараты салициловой кислоты, следовательно, аспирин, салол, диуретин и многие другие весьма часто назначаемые лекарства. Поэтому в случае положительного результата пробы Герхардта необходимо проверить, имеется ли действительно ацетоуксусная кислота или же какое-либо лекарственное вещество, или же и то и другое, причем присутствие лекарственного вещества не дает возможности обнаружить ацетоуксусную кислоту. Проверочные пробы основаны поэтому либо на разрушении ацетоуксусной кислоты, либо на удалении затемняющих реакцию веществ. Рекомендуется пробу Герхардта проделать с мочой, прокипяченной (кипятить не менее 2 минут), охлажденной и профильтрованной. Так как ацетоуксусная кислота при кипячении разрушается, то после кипячения окраска не должна появляться или во всяком случае должна быть значительно слабее. Более чувствительно следующее видоизменение: к 25 см<sup>3</sup> мочи прибавляют около 1 см<sup>3</sup> 25% раствора азотнокислого уранила, фильтруют и разделяют фильтрат поровну на две пробирки. В одну пробирку прибавляют 0,2—0,3 см<sup>3</sup> формалина и взбалтывают, затем прибавляют в обе пробирки по 4—5 капель 10% раствора полутрахлористого железа. Если моча не содержит, кроме ацетоуксусной кислоты, никаких составных частей, реагирующих с полутрахлористым железом, то моча, содержащая формалин, не окрашивается, а моча во второй пробирке становится огненнокрасной. Если имеются и другие вещества, то моча, обработанная формалином, окрашивается бледнее.

Удаление салициловой кислоты и других мешающих реакции веществ возможно посредством экстракции хлороформом: к 10 см<sup>3</sup> мочи в пробирке прибавляют 5 см<sup>3</sup> 30% уксусной кислоты, 5 капель люголевского раствора и 3 см<sup>3</sup> хлороформа; тщательно взбалтывают, дают хлороформу осесть на дно пробирки; если положительная реакция с полутрахлористым железом была обусловлена присутствием ацетоуксусной кислоты, то хлороформ остается бесцветным; в противоположном случае он окрашивается в красновато-фиолетовый цвет.

Если установлено, что положительный результат пробы Герхардта вызван действительно присутствием в моче ацетоуксусной кислоты, то все же по интенсивности окраски нельзя судить о ее количестве, так как полутрахлористое железо открывает только одну из двух форм, в которых ацетоуксусная кислота может содержаться в моче, а именно энольную, тогда как кетоформа им не открывается. Между тем при стоянии мочи энольная форма легко переходит в более устойчивую кетоформу.

Проба Герхардта на ацетоуксусную кислоту относительно мало чувствительна: она дает положительный результат только в присутствии 0,5 г в 1 л мочи, тогда как фиолетовое кольцо при реакции Ланге получается в присутствии 10—20 мг ацетоновых тел в 1 л мочи, и, как было указано, она обнаруживает в первую очередь не ацетон, а тоже ацетоуксусную кислоту. Следовательно, отрицательный результат реакции Герхардта означает не то, что ацетоуксусной кислоты в моче нет, а что концентрация ее ниже 0,5‰. Часто встречающееся в протоколах анализов мочи указание, что ацетоуксусной кислоты нет, а ацетон имеется, при



исследовании с нитропруссидным натрием и по Герхардту, следовательно, не соответствует химизму этих реакций, так же как отрицательный ответ на основании пробы на белок с азотной кислотой при наличии положительной реакции с сульфосалициловой кислотой. Но, как и в последнем случае, такой ответ удобен для врача, так как грубо ориентирует его относительно количества выделенной ацетоуксусной кислоты.

б) Проба Арнольд-Липлявского. Реактивы: 1) 1% водный раствор параамидоацетофенона; для лучшей растворимости к 100 см<sup>3</sup> жидкости прибавляют 2 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты; реактив не стоек, его нужно хранить без доступа света; лучше же готовить каждый раз перед началом работы; перед употреблением взбалтывают; 2) свежеприготовленный 1% раствор азотистокислого калия.

Ход исследования. 3 см<sup>3</sup> первого раствора и 1 см<sup>3</sup> второго раствора смешивают с 9 см<sup>3</sup> мочи, прибавляют 1 каплю концентрированного аммиака и сильно взбалтывают. Жидкость окрашивается в кирпично-красный цвет. К 2 см<sup>3</sup> этой жидкости прибавляют 15 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты, 3 см<sup>3</sup> хлороформа и 2—4 капли полторахлористого железа. Пробирку закрывают пробкой и осторожно смешивают жидкости, избегая образования эмульсии. В присутствии ацетоуксусной кислоты хлороформ принимает окраску от фиолетового до синего; в обратном случае он окрашивается в желтоватый или красноватый цвет. Сильно окрашенную мочу лучше предварительно обесцветить на холоду животным углем. Проба Липлявского достаточно чувствительна, и в большинстве случаев ничего другого не требуется.

4) Определение  $\beta$ -оксимасляной кислоты.  $\beta$ -оксимасляная кислота встречается в моче вместе с ацетоном и ацетоуксусной кислотой; ее ищут в моче только в том случае, если реакция на ацетоуксусную кислоту дала положительный результат.

а) Качественное определение. К 20 см<sup>3</sup> мочи приливают равное количество воды и несколько капель уксусной кислоты. Кипятят, пока количество жидкости не уменьшится наполовину; при этом разрушаются ацетон и ацетоуксусная кислота. Вновь доводят до 20 см<sup>3</sup> водой и разливают поровну в 2 пробирки; к одной из них прибавляют 1 см<sup>3</sup> перекиси водорода, осторожно нагревают в течение одной минуты, дают остыть. В обе пробирки прибавляют 10 капель ледяной уксусной кислоты и 10 капель свежеприготовленного концентрированного раствора нитропруссидного натрия, тщательно смешивают, наслаивают 25% аммиак, оставляют стоять 3—4 часа. В присутствии  $\beta$ -оксимасляной кислоты в пробирке, обработанной перекисью водорода, появляется пурпурное кольцо.

б) Количественное определение  $\beta$ -оксимасляной кислоты основано на свойстве ее вращать плоскость поляризации влево. Моче, освобожденной от белка, дают перебродить с дрожжами до полного исчезновения сахара, затем прибавляют уксуснокислый свинец и аммиак (для осаждения других левовращающих веществ) и фильтруют. Фильтрат в присутствии  $\beta$ -оксимасляной кислоты должен показывать вращение влево. Исследование производят в поляризационном сахариметре (см. «Определение сахара», стр. 319).

5) Диагностическое значение определения ацетоновых тел. Ацетоновые тела можно обнаружить в моче даже совершенно здорового человека после длительного приема пищи, содержащей только мясо и жиры и по возможности лишенной углеводов; то же встречается у больных, которые почему-либо голодают, например, во время бессознательного состояния при тяжелом инфекционном заболевании, после наркоза. Подобная кетонурия не имеет сколько-нибудь грозного значения, потому что



быстро исчезает при введении углеводов. Ацетоновые тела встречаются также при своеобразном расстройстве обмена у детей — так называемой ацетонемической рвоте; в этих случаях нахождение их в моче является ценным диагностическим признаком.

Но чаще всего положительная реакция на ацетоновые тела получается в диабетической моче, где она является критерием правильности пищевого режима: если количество вводимых жиров не соответствует количеству усваиваемых углеводов, то реакция становится положительной. Особое внимание требуется при режиме, направленном на уничтожение глюкозурии без помощи инсулина: так как агликозурия достигается уменьшением введения углеводов, то нередко случается, что при этом больной усваивает углеводов меньше, чем до начала лечения, из более богатой ими пищи, и при том же количестве жиров начинает выделять ацетон. Обратное наблюдается при лечении инсулином: там уничтожение глюкозурии объясняется лучшим усвоением углеводов и не сопровождается ацетонурией.

Таким образом, обнаружение ацетоновых тел в моче диабетиков представляет большой интерес для лечащего врача, ежедневно определяющего диету больного. Наоборот, количественное определение ацетоновых тел в моче не может иметь значения, так как они выделяются преимущественно легкими (характерный запах выдыхаемого воздуха), и соотношение между количеством ацетона в выдыхаемом воздухе и в моче не представляет чего-либо закономерного. Например, в моче здорового взрослого человека тоже имеется небольшое количество ацетоновых тел (не открываемое описанными выше реакциями): за сутки выделяется почками 10—30 мг ацетоновых тел, тогда как легкими 20—80 мг. Поэтому целесообразнее ограничиться грубо ориентировочной оценкой. С этой целью различают три степени выделения ацетоновых тел:

Первая степень: ацетонурия без положительной реакции с полуторахлористым железом соответствует выделению кетоформы в количестве около 0,5—1 г (даже при тяжелом диабете суточное количество выделенной ацетоуксусной кислоты — кетоформа и эноловая форма — редко превышает 5—6 г).

Вторая степень: слабая положительная реакция с полуторахлористым железом означает выделение нескольких граммов ацетоновых тел.

Третья степень: если имеется резко положительная реакция Герхардта, то, как показывает опыт, всегда имеется также и  $\beta$ -оксимасляная кислота в количестве, по меньшей мере в 3 раза превышающем количество ацетоуксусной кислоты.  $\beta$ -оксимасляная кислота, следовательно, является при ацидозе количественно наиболее важным ацетоновым телом. Нередко можно обнаружить выделение 30—40 г  $\beta$ -оксимасляной кислоты в день; описаны случаи, когда было выделено 150 г кислоты.

## ЖЕЛЧНЫЕ ПИГМЕНТЫ

Присутствие желчных пигментов обыкновенно сказывается характерным темножелтым, коричневым или зеленым цветом мочи. Пена желтушной мочи тоже бывает окрашена в желтый цвет, что и служит самой грубой реакцией на желчные пигменты.

а) Проба Гмелина Для этой реакции нужна азотная кислота, содержащая примесь азотистой. На наличие последней указывает желтый цвет азотной кислоты. Для пожелтения ее ставят на несколько дней на яркий дневной свет, налив ее в плоскую чашку, или же нагревают



небольшое количество азотной кислоты в пробирке с кусочком дерева, например, обломком спички. Около 120 см<sup>3</sup> или больше мочи, подкисленной 1—2 каплями разведенной соляной кислоты, профильтровывают несколько раз через один и тот же маленький фильтр; фильтр расправляют на сухой фильтровальной бумаге и наносят стеклянной палочкой каплю азотной кислоты, содержащей примесь азотистой кислоты. Вокруг этой капли образуются концентрические цветные кольца: снаружи зеленое, затем кнутри синее, фиолетовое, красное, желтое. Из них для желчных пигментов характерно зеленое. Химизм реакции заключается в окислении билирубина в биливердин, билицианин и т. д.

б) Проба Розина. Мочу осторожно переслаивают 1% спиртовым раствором иода; последний, однако, часто смешивается с мочой вместо того, чтобы давать кольцо, поэтому целесообразно заменить его люголевским раствором (1 г иода и 2 г иодистого калия на 50 см<sup>3</sup> дистиллированной воды) или реактивом Блюменталья, в котором вода заменена насыщенным раствором поваренной соли. Тотчас же или через минуту на границе жидкостей появляется зеленое кольцо, которое держится очень долго. После приема антипирина также получается зеленое кольцо.

в) Проба с трихлоруксусной кислотой. К 2—3 см<sup>3</sup> мочи приливают 2 см<sup>3</sup> 20% трихлоруксусной кислоты и 2—5 капель пергидроля (30% перекиси водорода), взбалтывают, оставляют стоять. Жидкость спустя не более 15 минут окрашивается в зеленый цвет, причем максимум окраски иногда достигается уже в этот срок или же только через 30 минут. Зеленое окрашивание исчезает только спустя сутки.

Описанные реакции производятся с необработанной мочой и менее чувствительны, чем те, в которых предварительно вызывается образование осадка, захватывающего желчные пигменты и тем самым сгущающего их.

г) Проба Гупперт-Сальковского. К моче прибавляют 10—20% раствор углекислого натрия до ясно щелочной реакции, затем по каплям 10% раствор хлористого кальция или бария, пока не исчезнет желтушная окраска. Образовавшийся осадок отфильтровывают и жидкость сливают. В фильтре делают отверстие и небольшим количеством воды смывают осадок с фильтра в чистую пробирку; прибавляют 5 см<sup>3</sup> 5% алкогольного раствора соляной или серной кислоты и кипятят. В присутствии желчных пигментов получается зеленое или сине-зеленое окрашивание. Фильтрование удобно заменить центрифугированием.

д) Проба с реактивом Фуше. Одна из наиболее чувствительных проб выполняется следующим образом: к 10 см<sup>3</sup> мочи прибавляют половину этого объема 15% раствора хлористого бария, смешивают, фильтруют. Фильтр раскладывают на сухую фильтровальную бумагу и прибавляют 1—2 капли реактива Фуше (растворяют 25 г трихлоруксусной кислоты в 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и прибавляют 10 см<sup>3</sup> 10% раствора полторахлористого железа); появляется зеленое или синее окрашивание.

е) Диагностическое значение. Желчные пигменты появляются в моче при механическом препятствии к оттоку желчи и при поражениях паренхимы печени. В этих случаях открытие их в моче имеет такое же диагностическое значение, как в сыворотке крови, но в моче они появляются обычно при большей степени желтухи. При гемолитической желтухе желчных пигментов в моче не удается обнаружить; эта отрицательная реакция при наличии желтушного окрашивания кожи может иметь важное диагностическое значение.



## ЖЕЛЧНЫЕ КИСЛОТЫ

а) Проба Гея. Мочу, нейтрализованную едким натром в присутствии фенолфталеина в качестве индикатора, ставят на несколько часов на ледник, наливают ее в бокал и насыпают на ее поверхность небольшое количество сухого серного цвета. Если серный цвет сразу опускается на дно, желчные кислоты содержатся в количестве около 0,01% или больше; если для этого нужно осторожное взбалтывание — 0,0025% или больше; если даже после взбалтывания серный цвет продолжает плавать на поверхности, желчных кислот нет совсем.

б) Проба с пептоном и салициловой кислотой. 5—10 см<sup>3</sup> мочи фильтруют до полной прозрачности; если нужно, подкисляют уксусной кислотой, разводят дистиллированной водой до удельного веса ниже 1008, отмеривают 2 см<sup>3</sup> в другую пробирку и прибавляют 5 см<sup>3</sup> следующего реактива: пептона — 8,33 г, салициловой кислоты — 1,12 г, дистиллированной воды, подкисленной двумя каплями уксусной кислоты, — до 1 л. В присутствии желчных кислот получается молочная муть.

в) Проба с поверхностным натяжением. Можно также непосредственно измерить поверхностное натяжение мочи. Измерительную пипетку с расширением (предпочтительно пользоваться специально предложенными для этой цели пипетками, так называемыми сталагмометрами, стр. 234) укрепляют вертикально в штативе, набирают точно до метки дистиллированную воду и считают количество капель вытекающей воды, занимающей данный объем; затем набирают в ту же пипетку испытуемую мочу и тоже подсчитывают число капель. Чем меньше поверхностное натяжение, тем больше число капель. В нормальной моче число капель лишь незначительно больше, чем в воде, но в присутствии желчных кислот поверхностное натяжение резко уменьшается, так что число капель становится значительно больше.

г) Диагностическое значение. Желчные кислоты выделяются с мочой при механической желтухе; если закупорка продолжается очень долго, то количество их постепенно уменьшается. При печеночно-клеточной желтухе они по большей части содержатся в моче, но в некоторых случаях их не удается обнаружить. При гемолитической желтухе моча желчных кислот не содержит.

## УРОБИЛИН И УРОБИЛИНОГЕН

Уробилин выделяется с мочой частью как таковой, частью же в виде своего хромогена — уробилиногена, который затем при стоянии на свету или при окислении мочи, например, несколькими каплями люголевского раствора, превращается в уробилин. Поэтому в свежевыпущенной моче ищут уробилиноген, а в моче, стоявшей несколько часов, — уробилин; лучше все же прибавить люголевский раствор, чтобы окислить в уробилин весь уробилиноген. Присутствие билирубина препятствует открытию уробилина, поэтому его предварительно удаляют: прибавляют к 8 см<sup>3</sup> мочи 2 см<sup>3</sup> 10% раствора хлористого кальция или хлористого бария и несколько капель аммиака до ясно щелочной реакции и отфильтровывают. Реакции производят в фильтрате.

1) Уробилин. Определение уробилина проще и точнее всего производится следующими способами.

а) Определение при помощи спектроскопа (рис. 116 и 117). Исследуемую мочу наливают в цилиндр или, лучше, в сосуд с параллельными стенками и, держа сосуд перед щелью спектроскопа, направляют



спектроскоп на свет. Уробилин дает характерную полосу поглощения между синей и зеленой частью спектра, между фраунгоферовыми линиями E и F (рис. 117); в более сильных концентрациях он поглощает всю синюю часть спектра. Если моча сильно концентрирована, ее разбавляют водой. Перед спектроскопическим исследованием лучше подкислить мочу несколькими каплями серной кислоты или же прибавить несколько капель иодной настойки или люголевского раствора. Спектроскопическому опре-

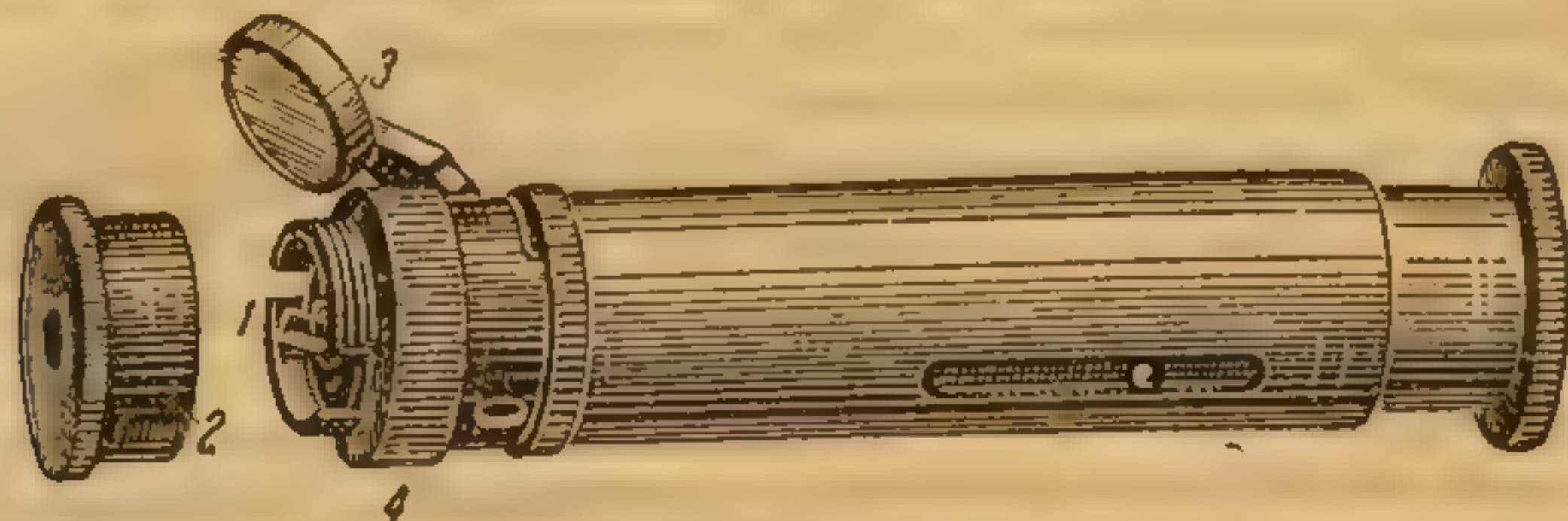


Рис. 116. Спектроскоп.

1 — призма; 2 — отвинченная задняя крышка; 3 — осветительное зеркало; 4 — винт, регулирующий ширину щели.

делению мешает присутствие других мочевых пигментов — билирубина, гемоглобина и его дериватов, поэтому от них избавляются, как указано выше.

б) **Проба Ненцкого.** Мочу слегка подкисляют соляной кислотой, приливают около  $\frac{1}{8}$  объема амилового алкоголя и, заткнув пробирку резиновой пробкой, многократно переворачивают ее, но не взбалтывают жидкость. Затем, дав алкоголю отстояться, приливают несколько капель алкогольного раствора аммиака и 1% спиртового раствора хлористого цинка. Амиловый алкоголь при этом дает красивую зеленую флюоресценцию.

в) **Проба Шлезингера.** 10 см<sup>3</sup> мочи смешивают с равным объемом 10% взвеси уксуснокислого



Рис. 117. Фраунгоферовы линии спектроскопа.

цинка в абсолютном спирте (взвесь перед употреблением тщательно взбалтывают) и фильтруют (лучше на следующий день). Фильтрат разливают поровну в две пробирки диаметром в 10 мм так, чтобы высота столба мочи была около 10 см. В одну пробирку приливают несколько капель концентрированной соляной кислоты. Обе пробирки рассматривают на темном фоне при резком боковом освещении. Характерна только зеленая флюоресценция. Прибавляют 1 каплю приблизительно п/10 раствора иода, чтобы перевести уробилиноген в уробилин. В присутствии белка реакция менее чувствительна, так как белок захватывает некоторое количество пигмента.

Фильтрат обладает также характерным спектром поглощения.

г) **Проба Флоранса.** 8—10 см<sup>3</sup> мочи подкисляют несколькими каплями концентрированной серной кислоты, взбалтывают, приливают несколько кубических сантиметров эфира и осторожно смешивают обе жидкости (плотно закрытую резиновой пробкой пробирку катают по столу). В другую пробирку наливают 2—3 см<sup>3</sup> концентрированной HCl, пипеткой отсасывают из первой пробирки эфирный слой и наслаивают его на соляную кислоту. На границе жидкостей образуется красное кольцо, интенсивность которого тем больше, чем больше содержится уробилина.



2) Уробилиноген. В свежесыпущенной моче можно искать уробилиноген. Реактивом служит диметил-парааминобензальдегид. 20 г этого вещества растирают в ступке в небольшом количестве концентрированной соляной кислоты, переносят в градуированный цилиндр соответствующей емкости, доливают соляной кислоты до 75 см<sup>3</sup> и воды до 150 см<sup>3</sup> и фильтруют. К 10 см<sup>3</sup> свежесыпущенной мочи, еще теплой или слегка подогретой, прибавляют 3 капли (0,15 см<sup>3</sup>) этого реактива, причем получается ясное красное окрашивание; легкое покраснение еще не означает положительного результата. Иногда окраска появляется только через 10 минут. Окраска, которая получается только при нагревании, обусловливается присутствием уже другого пигмента, имеющего, однако, то же диагностическое значение. В присутствии билирубина лучше прибавить 2 см<sup>3</sup> хлороформа и взболтать: красное окрашивание переходит в хлороформ. Ту же реакцию дают многие другие вещества: индол, скатол, индикан, белок и продукты его распада, пиррол и его производные; из лекарств: сальварсан, ревень, гексаметилентетрамин и некоторые другие. Это значительно уменьшает ценность данной реакции. Более специфична реакция Шлезингера (см. выше). Уробилиноген дает ясные полосы затемнения в желто-оранжевой части спектра между *D* и *E*. Количественное определение — см. «Фекальные массы».

3) Диагностическое значение. Основная масса уробилина образуется в кишечнике при восстановлении билирубина. Из кишечника уробилин поступает в кровь воротной вены и с ней в печень, где вновь окисляется в билирубин и, таким образом, опять попадает в кишечник; часть же при этом остается в токе крови и попадает в мочу. Таким образом, небольшое количество уробилина имеется и в нормальной моче.

Из сказанного прежде всего следует, что при полной закупорке желчного или печеночного протока, когда желчь не поступает в кишечник, уробилина в моче не удастся открыть. В этих случаях, следовательно, отрицательная реакция представляет диагностический интерес, равно как появление уробилина в моче после периода отсутствия его, указывающее на восстановление проходимости желчных путей. Само собой разумеется, что если фекальные массы уже опять окрашены, то производить реакцию на уробилин в моче не имеет смысла.

Отрицательная реакция на уробилин характерна также для мочи, выделяемой при тяжелой недостаточности почек.

Диагностическое значение повышенного содержания уробилина в моче уменьшается тем, что встречается не только при болезнях печени, но и при некоторых других заболеваниях, прежде всего при повышении гнилостных процессов в кишечнике, а также при усиленном распаде эритроцитов. В том и в другом случае в печень поступает такое большое количество уробилина, что часть его не окисляется даже при ненарушенной функции ее и попадает в кровь и из нее в мочу в большом количестве, т. е. имеется относительная недостаточность печени. Таково происхождение уробилинурии при гемолитических анемиях; она отличается от уробилинурии вследствие болезни печени тем, что в моче нет билирубина, а уробилина в моче — при количественном определении (см. «Исследование кала», стр. 550) — оказывается больше, чем уробилина в фекальных массах. При уробилинурии вследствие болезни печени наблюдается обратное соотношение этих двух величин. Окончательно решает вопрос наличие анемии. При наличии гемолитической анемии количественное определение уробилина может служить некоторым критерием интенсивности распада эритроцитов.

Если нет основания предполагать какой-либо из указанных выше моментов, то уробилинурию можно считать следствием абсолютной недоста-



точности печени, не окисляющей даже нормального количества поступающего в нее уробилина. Уробилинурия такого происхождения наблюдается при большинстве инфекционных заболеваний, так как они обычно сопровождаются ослаблением функции печени. Уробилинурия, далее, может служить ранним признаком сердечной декомпенсации. Ее удастся обнаружить также во многих случаях базедовой болезни, вероятно, как следствие токсического повреждения печени.

Из заболеваний самой печени наибольшее количество уробилина выделяется при циррозе печени; он всегда обнаруживается также при сифилисе печени, холангите и интоксикациях (алкоголь, хлороформ). При так называемой катарральной желтухе уробилинурия на высоте заболевания иногда исчезает, так как перестает выделяться желчь. В этих случаях прибавление диметил-парааминобензальдегида иногда дает зеленое окрашивание, которое считается признаком тяжести заболевания. При желчно-каменной болезни уробилинурия наблюдается только во время приступа, если нет полной закупорки (см. выше).

## КРОВЬ И КРОВЯНЫЕ ПИГМЕНТЫ

Обнаружение крови в моче может быть произведено спектроскопически, микроскопически и химически. Первый способ был уже описан раньше, относительно второго см. в главе «Осадки мочи» (стр. 391). Химические реакции на кровь следующие:

а) Проба Геллера. К моче (около половины пробирки) прибавляют несколько капель 10% едкого кали или натра и кипятят. Гемоглобин при этом переходит в гематин, который тотчас восстанавливается в гемохромоген; последний увлекается выпадающими при нагревании щелочной мочи фосфатами, вследствие чего осадок фосфатов имеет не белый или грязно-белый, а красный цвет, постепенно переходящий в коричневый (окисление гемохромогена в гематин под влиянием кислорода воздуха). Если жидкость при кипячении сильно встряхивают, то сразу образуется гематин и осадок становится коричневым. Как жидкость, так и осадок в падающем свете кажутся зелеными (дихроизм). Если в моче фосфатов мало, то осадка не образуется. В таком случае к исследуемой моче приходится прибавлять равный объем нормальной мочи, заведомо не содержащей крови.

После приема сенны, ревеня, сантонина и некоторых других лекарств осадок фосфатов окрашивается в такой же красный цвет, но без дихроизма. Осадок отфильтровывают и растворяют в уксусной кислоте: в присутствии крови последняя становится красной и постепенно бледнеет, тогда как в присутствии указанных лекарственных веществ цвет жидкости желтый с переходом в фиолетовый.

Описанная реакция очень мало чувствительна и может применяться только как грубо ориентировочная. Отрицательный результат ее не исключает присутствия крови в таком количестве, которое представляет интерес для врача.

б) Проба Вебера ван Дена. Реактивы: 1) гваяковая настойка; щепотку гваяковой смолы растворяют в 95% спирте; раствор должен иметь цвет портвейна; 2) озонированный скипидар: скипидар наливают тонким слоем в стеклянную чашку и оставляют стоять на рассеянном свете при комнатной температуре; когда жидкость станет сиропообразной и почти перестанет пахнуть скипидаром, к ней прибавляют пятикратный объем обыкновенного скипидара; испытание реактива: наливают несколько кубических сантиметров в сухую пробирку с пробкой; прибавляют немного ртути и 10 капель свежеприготовленной гваяковой



настойки и встряхивают — очень быстро развивается интенсивное синее окрашивание; можно заменить скипидар 3% перекисью водорода, но реакция тогда несколько менее чувствительна; 3) 95% спирт.

**Ход определения.** 5 см<sup>3</sup> мочи нейтральной или слабокислой реакции кипятят в пробирке и дают остыть до комнатной температуры, после чего прибавляют не более 3—10 капель свежеприготовленной гваяковой настойки (избыток значительно уменьшает чувствительность реакции) и 20 капель скипидара и оставляют стоять 2—3 минуты, повторно взбалтывая (не закрывать пробку пальцем). Наслаивают на слой скипидара несколько кубических сантиметров спирта: спиртово-скипидарный слой окрашивается в синий цвет. Реакция специфична.

Если пользуются вместо скипидара перекисью водорода, то последнюю лучше внести пипеткой под смесь мочи и гваяковой настойки: синее окрашивание развивается в нижнем слое.

**в) Бензидиновая проба** производится следующим образом: к 3 каплям 0,3% раствора бензидина в 50% уксусной кислоте прибавляют равное количество 3% перекиси водорода и 1 см<sup>3</sup> мочи: в положительном случае получается зеленое или синее окрашивание. Лучше делать эту пробу на фильтровальной бумаге, сквозь которую профильтровано некоторое количество мочи. Смесь из раствора бензидина в уксусной кислоте и перекиси водорода (в равных частях) наливают прямо на фильтр, направленный на сухой фильтровальной бумаге, и наблюдают за появлением описанной выше окраски. Реакция не специфична.

Более концентрированный раствор бензидина может дать положительную реакцию уже при том количестве эритроцитов, которое иногда встречается в моче при нормальных условиях.

Отрицательный результат двух последних реакций не исключает присутствия крови, так как кровь, содержащаяся в моче, быстро превращается в метгемоглобин, который уже не может служить переносчиком кислорода. Кроме того, моча, особенно концентрированная (высокого удельного веса) и мутная (причем муть не растворяется ни при нагревании, ни при добавлении кислоты), часто содержит вещества, задерживающие эту реакцию.

## ПОРФИРИНЫ

Из порфиринов в моче содержатся главным образом уропорфирины и копропорфирины. Моча, в которой надлежит определить порфирины, должна быть собрана за сутки, причем хранить ее следует без доступа света.

**1) Определение уропорфирина.** а) Качественное определение. Для обнаружения уропорфирина приходится извлекать его путем осаждения из большого количества мочи. На каждые 100 см<sup>3</sup> мочи берут 20 см<sup>3</sup> 10% раствора едкого натра, осадок собирают на маленьком фильтре, промывают сначала водой, потом спиртом, дают высохнуть и растворяют в 2 см<sup>3</sup> абсолютного спирта, содержащего 5% соляной кислоты. Раствор обладает характерным спектром поглощения: одна полоса перед D, вторая, более широкая, между D и E (стр. 335). Если раствор подщелочить аммиаком, то он желтеет и спектр поглощения изменяется; появляются 4 полосы: узкая полоса в красной части, две полосы в зеленой части и четвертая полоса на границе зеленой и синей части.

б) Количественное определение. Этот метод можно использовать и для количественного определения уропорфирина. Принцип количественного определения посредством спектроскопии основан на том, что по мере увеличения толщины слоя исследуемой жидкости полосы погло-



щения постепенно ослабевают и, наконец, совсем исчезают; то же происходит при увеличении концентрации вещества при неизменном слое. Третья полоса поглощения, при концентрации 6,82 мг в 100 см<sup>3</sup>, становится еле заметной, если слой равен 10 мм.

Собирают и измеряют суточную мочу, отмеривают из нее 500 см<sup>3</sup>, прибавляют 50 см<sup>3</sup> 10% раствора едкого натра. На следующий день сливают жидкость с осадка, остаток фильтруют, лучше в бюхнеровской воронке с отсасыванием посредством водоструйного насоса, промывают осадок на фильтре дистиллированной водой; фильтр вынимают, распластывают на сухой фильтровальной бумаге, сушат в термостате при 37°. Сухой осадок соскабливают с фильтра, растворяют в 2 см<sup>3</sup> 25% соляной кислоты, фильтруют сквозь маленький фильтр, спектроскопируют. Если имеются характерные полосы поглощения, переносят в стаканчик колориметра Дюбоска. Вторым стаканчик закрывают картоном. К окуляру представляют плотную обыкновенный ручной спектроскоп с контрольным спектром; укрепляют его в штативе. Устанавливают стаканчик колориметра так, чтобы третья полоса была еле видна. Расчет производят по общему правилу:

$$K_{ст} : K_x = V_x : V_{ст},$$

где  $K_{ст} = 6,8 \text{ мг}\%$ ,  $V_{ст} = 10$  (см. выше),  $K_x$  — концентрация вещества во взятом количестве растворителя. Осадок был растворен не в 100 см<sup>3</sup>, как стандартный раствор (6,82 мг в 100 см<sup>3</sup>), а в 2 см<sup>3</sup>; в 100 см<sup>3</sup> видимость была бы в 50 раз меньше. Следовательно, найденное количество нужно разделить на 50. Количество уропорфирина в 500 см<sup>3</sup> мочи равно:

$$\frac{6,82 \cdot 10}{V_x \cdot 50}.$$

Ответ дают в миллиграммах на суточное количество мочи, т. е. найденное количество делят на 500 и умножают на суточное количество.

2) **Определение копропорфирина.** Очень чувствителен способ, основанный на флюоресценции копропорфирина. На нем также можно основывать количественное определение, но для последнего нужны более сложные оптические приборы.

Суточную мочу собирают в банку из темного стекла, предварительно налив в нее слой толуола толщиной в палец. Банку все время хранят в темноте. На следующее утро измеряют количество мочи, отмеривают из общей массы 100 см<sup>3</sup> и переносят в делительную воронку емкостью в 1 л. Прибавляют 10 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты и около 250 см<sup>3</sup> серного эфира; тщательно взбалтывают в течение 5 минут. Когда жидкость разделится на слои, мочу спускают в другую делительную воронку такой же емкости и встряхивают с новой порцией эфира, которого берут около 100 см<sup>3</sup>. Обе эфирные вытяжки соединяют вместе и встряхивают в делительной воронке с дистиллированной водой; повторно сливают воду и наливают чистую, пока вода не будет иметь нейтральной реакции на лакмус. В большинстве случаев достаточно взять для промывания 3 раза по 200 см<sup>3</sup> воды. Разделение эфира и воды можно ускорить, прибавляя после взбалтывания немного спирта. Оставляют стоять с последней порцией воды около 30 минут, спускают воду, прибавляют к эфиру около 4 см<sup>3</sup> 5% соляной кислоты и тщательно взбалтывают. Спускают соляно-пробирку, доводят той же 5% соляной кислотой точно до 5 см<sup>3</sup>.

Если копропорфирин в моче содержалось много, то солянокислый экстракт имеет интенсивное розово-красное окрашивание. Если моча



содержала также и желчные пигменты, то экстракт получается зеленовато-сероватым. При спектроскопии это загрязнение не мешает. Удалить желчные пигменты можно, если к солянокислой вытяжке, перенесенной в небольшую делительную воронку, прибавить уксуснокислого натрия до нейтральной реакции на конго и встряхивать с 20 см<sup>3</sup> эфира. Эфирную вытяжку несколько раз промывают водой и вновь извлекают 5% соляной кислотой, как раньше, чтобы получить 5 см<sup>3</sup> чистой солянокислой вытяжки копропорфирина в 5% соляной кислоте.

Если вытяжка уже на дневном свете имеет розово-красное окрашивание, то ее можно непосредственно поставить в соответствующем сосуде перед спектро스코пом и проверить полосы поглощения.

Если вытяжка при дневном свете бесцветна, а в учреждении имеется ртутно-кварцевая лампа, то можно, поставив перед лампой какой-нибудь ультрафиолетовый фильтр, рассматривать вытяжку при этом свете: в присутствии копропорфирина жидкость флюоресцирует красным цветом, интенсивность которого колеблется, в зависимости от концентрации копропорфирина, от светлокарминового до розового и кирпичнокрасного. Так как моча не содержит других краснофлюоресцирующих веществ, то появление этой флюоресценции можно ставить в зависимость от наличия копропорфирина.

3) **Диагностическое значение.** Присутствие порфирина наблюдается при свинцовом отравлении, особенно остром, и поэтому нахождение его имеет большое диагностическое значение для распознавания этой болезни, а также при хроническом отравлении вероналом и сульфоналом или трионалом. Известны также своеобразные заболевания — врожденная порфиринурия, а также острые приступы выделения порфирина.

## ИНДИКАН

Индикан принадлежит к числу составных частей нормальной мочи. В тонких кишках под влиянием трипсина, а также всегда имеющих в кишках процессов брожения происходит расщепление триптофана (индоламинопропионовой кислоты); продукт этого расщепления — индол — подвергается всасыванию и окисляется в тканях в индоксил. Последний вступает в соединение с серной или глюкуроновой кислотой, образуя эфиросерные кислоты (индоксилсерный калий) или индоксилглюкуроновую кислоту, которые и носят название индикана (мочевой индикан). Если эти вещества обрабатывают кислотой и окислителем, то они вновь расщепляются и освобожденный индоксил окисляется в синее индиго. На этой реакции и основаны способы обнаружения индикана в моче.

а) **Проба Яффе.** 10 см<sup>3</sup> освобожденной, если нужно, от белка мочи смешивают в большой пробирке с равным объемом концентрированной соляной кислоты, приливают 2—3 см<sup>3</sup> хлороформа (дешевле пользоваться смесью хлороформа и бензина 1+1 или 1+2) и 2—3 капли окислителя — насыщенного на холоду раствора хлорной извести (CaOCl<sub>2</sub>) или 2% раствора марганцовокислого калия. Закрыв пробкой отверстие пробирки, смешивают ее содержимое, для чего переворачивают пробирку раз 20 или катают ее по столу. При этом хлороформ извлекает образовавшееся индиго и окрашивается в синий цвет. По окончании извлечения хлороформ должен упасть на дно пробирки и образовать нижний слой (смесь хлороформа с бензином образует верхний слой). Если содержимое пробирки было подвергнуто слишком сильному встряхиванию, то образуется стойкая эмульсия и жидкость не разделяется на слои. Окислитель нужно добавлять осторожно, так как избыток его окисляет индиго в жел-



товатый изатин, который трудно обнаружить. Если больной принимал препараты иода, то хлороформ окрашивается в розоватый цвет, исчезающий при прибавлении серноватистокислого натрия в виде кристаллика или в виде нескольких капель насыщенного раствора; окраска от индиго при этом не изменяется. Иногда при слабом окислении образуется не синее, а красное индиго; красная окраска хлороформа и в этом случае не исчезает от прибавления гипосульфита. Гваякол дает синее окрашивание хлороформа, быстро переходящее в зеленое.

б) Проба Обермейера. Реактивы: 1) реактив Обермейера: 0,2 г полутрахлористого железа растворяют в 100 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты (удельный вес 1,19); реактив нестойк; 2) 20% раствор уксуснокислого свинца; рекомендуется подкислить его уксусной кислотой и профильтровать.

Ход определения. К 20 см<sup>3</sup> мочи, если нужно, подкисленной, прибавляют, в зависимости от ее свойств, 5—10 см<sup>3</sup> уксуснокислого свинца (2); если моча имеет высокий удельный вес, то берут меньше свинцового раствора. Если в дальнейшем при прибавлении соляной кислоты выпадает осадок хлористого свинца, то следует повторить определение с меньшим количеством свинцового раствора. Фильтруют и прибавляют к фильтрату равное количество свежеприготовленного реактива Обермейера (1) и несколько кубических сантиметров хлороформа. Вытяжка окрашена в синий цвет.

Еще чувствительнее эта реакция становится, если перед прибавлением реактива Обермейера взболтать фильтрат с несколькими каплями 5% спиртового раствора тимола.

Реакция не получается, если больной принимал уротропин или если к моче для предупреждения гниения был прибавлен формалин.

в) Количественное определение. Реакции по Яффе можно придать грубо количественное значение. Если к 3 см<sup>3</sup> мочи, смешанной с 3 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты и 1 см<sup>3</sup> хлороформа, до перехода индиго в изатин прилить более 12 капель хлорной извести, то количество индикана можно считать повышенным; если требуется 20 и больше капель, то имеется тяжелая индиканурия.

Более точное количественное определение, не отнимающее много времени и не требующее новых реактивов, предложено Альтшулером. Определение основано на реакции Обермейера. Реактивы: 1) 20% раствор трихлоруксусной кислоты; 2) реактив Обермейера — см. выше; 3) 5% спиртовый раствор тимола; 4) хлороформ.

Ход определения. В градуированную центрифужку емкостью 10 см<sup>3</sup> с делениями в 0,1 см<sup>3</sup> отмеривают из суточного количества 0,2 см<sup>3</sup> нефльтрованной мочи и приливают 0,6 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, 0,2 см<sup>3</sup> трихлоруксусной кислоты (1), 0,5 см<sup>3</sup> тимола (3) и 1,2 см<sup>3</sup> реактива Обермейера (2). Закрывают пробирку пробкой, сильно встряхивают; оставляют стоять в течение 1 часа. Прибавляют 1 см<sup>3</sup> хлороформа (4), сильно встряхивают в продолжение 1/2—1 минуты, центрифугируют 3—5 минут. Верхний (водный) слой жидкости отсасывают, а к хлороформному слою прибавляют хлороформа, пока окраска не станет светлорозовой. Для сравнения наливают в другую пробирку немного чистого хлороформа и смотрят на фоне молочного стекла (или пергаментной или вошеной бумаги).

Вычисление. Слаборозовое окрашивание получается в присутствии 0,001 мг индикана в 2 см<sup>3</sup> хлороформа. Если для разбавления к 1 см<sup>3</sup> хлороформа было прибавлено еще 7,2 см<sup>3</sup>, то количество индикана во взятом для определения количестве мочи во столько раз больше 0,001, во сколько 8,2 больше 2. Исходя из этого, вычисляют количество инди-



кена во всем суточном объеме мочи. Полученную при этом величину надо разделить на 1,6, так как в присутствии трихлоруксусной кислоты получается цифра, в 1,6 раз бóльшая, чем соответствует действительности. Таким образом, для данного случая количество индикана, выделенное за сутки, составляет:

$$\frac{0,001 \times 8,2 \times 5 \times \text{объем мочи}}{2 \times 1,6}.$$

г) Диагностическое значение. Небольшое количество индикана содержится и в нормальной моче; после мясной пищи его больше, чем после молочной и углеводной. При оценке интенсивности реакции на-глаз необходимо учитывать степень концентрации мочи: количество индикана, которое может считаться нормальным для мочи с удельным весом 1 028—1 030, будет патологически повышенным для бледной мочи низкого удельного веса. Увеличение количества индикана в моче наблюдается уже при простом запоре; оно может достигнуть значительных размеров при повышении процессов гниения в тонких кишках, поэтому количество индикана сильно увеличено при непроходимости кишок, особенно если препятствие находится в тонких кишках; в таких случаях реакция на индикан может приобрести даже дифференциально-диагностическое значение. Повышенное количество индикана наблюдается также при брюшном тифе, туберкулезе кишечника, перитоните, а также при процессах вне кишечника, сопровождающихся интенсивным гниением белка (абсцессы) (см. стр. 208).

### ДИАЗОРЕАКЦИЯ ЭРЛИХА

Различные вещества, содержащиеся в патологической моче, вступают в соединение с парадиазобензосульфоновой кислотой, давая при этом красное окрашивание. Химическая природа этих веществ еще точно не установлена; повидимому, это продукты распада белковых тел, в первую очередь вещества, содержащие амидазольное ядро (гистидин), продукты расщепления тирозина, триптофана и др.

Реактивы: 1) диазореактив: 2,5 г сульфаниловой (парааминобензосульфоновой) кислоты вносят в мерную колбу емкостью 500 см<sup>3</sup>, наливают воды, прибавляют 25 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты и по растворении доливают воды до метки; если нужно, фильтруют; 2) 0,5% раствор азотистокислого натрия; 3) 10% аммиак.

Ход определения. Если нет специальной пробирки (по Ранке) с метками для приливания мочи и реактивов, то отмеривают в обыкновенную пробирку большого размера 10 см<sup>3</sup> мочи и 10 см<sup>3</sup> диазореактива (1), прибавляют 2 капли азотистокислого натрия (2) и сильно взбалтывают. Наблюдающееся при этом изменение цвета не имеет диагностического значения. Приливают 2 см<sup>3</sup> аммиака (3): в положительном случае получается окрашивание от розового до интенсивно карминокрасного, а пена при взбалтывании окрашивается в красный цвет; именно наличие последнего изменения — окрашенной пены — считается положительной реакцией; желтое или коричневое окрашивание не учитывается. В сомнительных случаях оставляют стоять до следующего дня: в положительном случае образуется осадок сине-зеленого или черного цвета.

Опий, морфин, дионин, героин, хризаробин, нафталин, атофан, сальварсан дают похожее окрашивание; препараты танина, вино, фенол и его производные, крезол, креозот, гваякол, салол мешают реакции. Перечисленные источники ошибок необходимо иметь в виду, так как при



тяжелых заболеваниях, при которых прибегают к данной пробе, эти лекарства нередко назначают.

Из сказанного вначале видно, что эта реакция не может быть специфичной для какого-либо заболевания. Положительный результат наблюдается при брюшном и сыпном тифе, кори, трихинозе, тяжелом туберкулезе, пневмонии, скарлатине, дифтерии и роже; наоборот, при суставном ревматизме, менингите, краснухе и сифилисе результат обычно отрицательный.

## УРОХРОМЫ

Под этим названием объединяют группу красящих веществ, обуславливающих желтый цвет мочи. Число их точно не установлено. Приводимая ниже реакция, предложенная Вейсом как реакция на урохромоген, несомненно, неспецифична для урохромов.

1) **Ход определения.** К 8 см<sup>3</sup> приливают равное количество воды и разделяют разбавленную таким образом мочу на две пробирки. К первой из них прибавляют 3 капли 0,1% (1:1 000) раствора марганцовокислого калия. Появляется более или менее интенсивное желтое окрашивание, особенно убедительное при сравнении со второй пробиркой.

2) **Диагностическое значение.** Положительная реакция наблюдается при различных тяжелых инфекционных заболеваниях, особенно при тифе, далее, при кори, скарлатине (если нет поражения почек), гриппе, ангине, а также при наличии тяжелого туберкулезного процесса. Особенно охотно пользуются ею в туберкулезных учреждениях для суждения о степени тяжести туберкулезного заболевания: в легких случаях реакция отрицательная, а в тяжелых — положительная. Положительный результат часто наблюдается также при раке, поэтому у пожилых людей он может служить подтверждением предположительного диагноза.

## УРОРОЗЕИН

Уророзеин выделяется с мочой в виде хромогена, который превращается в пигмент при обработке минеральной кислотой. К 10 см<sup>3</sup> мочи приливают 5 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты и несколько капель 1% раствора азотистого калия и смешивают. В присутствии уророзеина получается розово-красное окрашивание; при взбалтывании с амиловым спиртом последний окрашивается в красный цвет.

Уророзеин (хромоген) обнаруживается в моче при туберкулезе, тифе; его можно обнаружить также при легких степенях почечной недостаточности — при наличии изостенурии, а также при заболеваниях печени и желудочно-кишечного тракта.

## ХЛОР

1) **Способ Мора.** Количественное определение хлора основано на титровании его азотнокислым серебром. Для клинических целей обычно удовлетворяются способом Мора. Принцип этого способа: хлориды осаждают в нейтральной или слабокислой среде стандартным раствором азотнокислого серебра, приливаемым из бюретки. В качестве индикатора пользуются несколькими каплями хромовокислого калия (или натрия). Хлористое серебро и хромовокислосеребро нерастворимы, но хлористое серебро настолько более нерастворимо, что постоянного осадка хромовокислого серебра не образуется, пока не будет осажден весь хлор. После этого первая следующая капля серебра дает не исчезающее коричневое окрашивание хромовокислого серебра.



Если моча содержит белок, его следует удалить, как было описано выше (стр. 315).

Реактивы: 1) раствор азотнокислого серебра, содержащий 29,061 г химически чистого  $\text{AgNO}_3$  на 1 л дистиллированной воды; 1 см<sup>3</sup> этого раствора соответствует 0,01 г хлористого натрия; 2) 10% раствор хромовокислого калия; 3) 1/10 раствор едкого натра.

Ход определения. Отмеривают точно 10 см<sup>3</sup> мочи в мерную колбу емкостью в 100 см<sup>3</sup>, прибавляют едкий натр (3) до момента получения нейтральной реакции на лакмус, доливают водой до 100 см<sup>3</sup>. Берут для определения 5 или 10 см<sup>3</sup> в стаканчик (= 0,5 или 1 см<sup>3</sup> мочи), прибавляют несколько капель хромовокислого калия (2) в качестве индикатора и приливают из бюретки раствор серебра до появления не исчезающего при взбалтывании кирпичнокрасного окрашивания.

Вычисление. 1 см<sup>3</sup> раствора серебра соответствует 0,01 г хлористого натрия, поэтому число потраченных кубических сантиметров умножают на 0,01; результат соответствует количеству граммов хлористого натрия во взятом для определения количестве мочи. Умножают полученную величину на 200 или на 100 (в зависимости от количества жидкости, взятого для титрования) и дают ответ в процентах; или же вычисляют, сколько граммов хлористого натрия было выделено за сутки.

Так как хлориды выделяются в моче преимущественно, хотя и не исключительно, в виде хлористого натрия, то обычно вычисление производится именно так, как указано; если же желательно выразить результат в количестве хлора, то полученное число делят на 1,65. Удобнее пользоваться в этих случаях не указанным, специально установленным на хлористый натрий раствором серебра, а децинормальным (16,994 г на 1 л дистиллированной воды); 1 см<sup>3</sup> такого раствора соответствует 3,55 мг хлора (или 5,85 мг  $\text{NaCl}$ ). По окончании исследования, произведенного точно так же, как было описано, но с другим раствором серебра, количество последнего, потраченное при титровании, умножают на 3,55 и получают содержание хлора в миллиграммах во взятой для исследования порции. Чтобы узнать количество хлора в миллиграмм-процентах, умножают полученное число на 200 или на 100, в зависимости от того, было взято 5 или 10 см<sup>3</sup> подщелоченной и разведенной мочи.

По окончании определения рекомендуется немедленно вылить из бюретки остаток раствора серебра и несколько раз ополоснуть ее дистиллированной водой; в обратном случае стекло чернеет, так как серебро восстанавливается уже при дневном свете. Если небольшое почернение все же наступило, то оно отмывается раствором иодистого калия (образуется бесцветный раствор иодистого серебра) или азотной кислотой.

Метод этот включает некоторые источники ошибок. Моча не должна быть кислой; с этой целью мочу нейтрализуют едким натром. Но этим устраняются не все недостатки метода: моча содержит органические вещества (например, пурины), которые тоже осаждаются серебром; поэтому лучше пользоваться способом Фольгардта, аналогичным тому, который применяется для определения хлоридов в крови.

2) Способ Фольгардта (видоизмененный). Хлориды осаждают азотнокислым серебром в присутствии азотной кислоты и избыток серебра оттитровывают обратно роданистым аммонием. Индикатором служит раствор железозаммиачных квасцов: появление бурокрасного роданистого железа указывает, что все серебро, оставшееся свободным после реакции с хлором, превратилось в роданистое соединение, так что следующая капля роданистого аммония реагирует уже с индикатором.



**Реактивы.** Железоаммиачные квасцы, азотнокислое серебро и азотная кислота могут быть соединены в один реактив. Это не только упрощает работу, но и улучшает раствор серебра, который азотной кислотой стабилизуется. 1) Стандартный раствор азотнокислого серебра: 29,061 г азотнокислого серебра растворяют приблизительно в 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды в мерной колбе емкостью в 1 л; прибавляют 250 см<sup>3</sup> концентрированной азотной кислоты и 250 см<sup>3</sup> насыщенного водного раствора железоаммиачных квасцов и доводят дистиллированной водой до метки; 1 см<sup>3</sup> этого раствора соответствует 0,01 г хлористого натрия; 2) стандартный раствор роданистого аммония: растворяют около 6,5 г роданистого аммония в 800 см<sup>3</sup> дистиллированной воды; титруют этот раствор предыдущим: отмеривают в стаканчик 10 см<sup>3</sup> стандартного раствора азотнокислого серебра, прибавляют около 20 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и приливают раствор роданистого аммония из бюретки; исходя из количества потраченного раствора, готовят стандартный раствор так, чтобы он был эквивалентен раствору серебра (см. «Приготовление титрованных растворов»).

**Ход определения.** Отмеривают в эрленмейеровскую колбочку емкостью в 250 см<sup>3</sup> 5 см<sup>3</sup> мочи, приливают 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и 10 см<sup>3</sup> стандартного раствора азотнокислого серебра (1). Титруют роданистым аммонием (2) до первого появления коричневатого или желтовато-красного окрашивания, не исчезающего в течение нескольких секунд.

**Вычисление.** Количество хлористого натрия в граммах во взятой для исследования порции мочи равно разности между количеством прибавленного к моче серебра и количеством потраченного роданистого аммония.

Если моча содержит очень много хлора, 10 см<sup>3</sup> серебра может оказаться недостаточно, чтобы связать весь хлор, и избытка серебра не будет: коричневатое окрашивание получится уже от первой капли роданистого аммония. В этом случае приливают к моче еще 5 см<sup>3</sup> серебра и производят титрование.

Главный источник ошибок заключается в том, что ищут постоянной перемены цвета, тогда как в данном титровании конечным пунктом должно считаться уже появление коричневатого окрашивания, удерживающегося несколько секунд во всей массе жидкости после короткого взбалтывания. Если моча содержит много ацетоуксусной кислоты, то красное окрашивание получается уже до прибавления роданистого аммония. В этих случаях ацетоуксусную кислоту разрушают кипячением в течение нескольких минут после подкисления мочи.

То же может получиться, если с мочой были выделены салициловые препараты. В этом случае отмеривают другую порцию мочи и серебра в отдельную колбочку и титруют первую порцию до тех пор, пока жидкость не будет более интенсивно окрашена, чем во второй порции.

**3) Диагностическое значение.** К определению количества хлоридов в моче за последнее время часто прибегают при проведении бессолевой диеты. Уже через несколько дней бессолевой диеты количество выделяемого с мочой хлора падает до очень низких цифр — 1 г и меньше в сутки. Путем ежедневного контроля выделения можно обнаружить как ошибки со стороны кухни при приготовлении пищи, так и нарушения дисциплины со стороны больного.

Количество выделенных с мочой хлоридов при обычной диете (10—15 г) резко уменьшается при пневмониях. При центральной локализации воспалительного процесса, трудно обнаруживаемой физическими методами исследования, резкое уменьшение суточного выделения хлоридов может

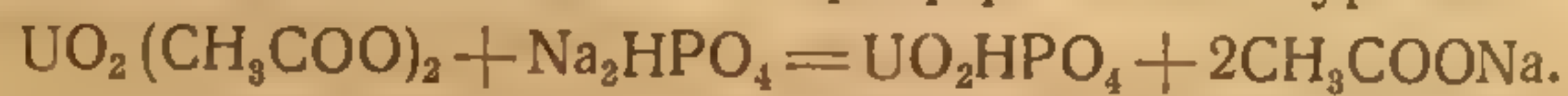


иметь диагностическое значение. Уменьшением выделения хлоридов сопровождается образование отеков — оно может быть обнаружено раньше, чем самые отеки: выделение хлоридов падает с нормальных 15 г до 1,5—5 г. Характерно при этом нарастание веса тела. Обратно, повышение выделения хлоридов может служить признаком начавшегося уменьшения отеков.

Поражение почек тоже сопровождается расстройством выделения хлоридов; при этом характерно не столько суточное количество их, сколько концентрация хлоридов в моче. Трудно, однако, правильно оценить получаемые данные, так как в регуляции хлорывыделения участвует слишком много экстраренальных факторов. Если концентрация хлоридов при отсутствии экстраренальных факторов не доходит до 1‰, то можно говорить о расстройстве выделения; количество хлоридов в крови при этом не повышается, так как хлор удерживается тканями; при большом количестве мочи суточное выделение может оставаться нормальным. Количество хлоридов в моче понижено также при непроходимости кишок (образование экссудата), что может в сомнительных случаях помочь при выяснении диагноза.

## ФОСФАТЫ

Принцип. При титровании горячего раствора фосфатов (в данном случае мочи) азотнокислым или уксуснокислым уранилом все неорганические фосфаты выделяются в виде фосфорнокислого уранила.



(Уксуснокислый уранил)

(Фосфорнокислый уранил)

Окончание реакции узнают по появлению коричневой окраски, которую избыточный уксуснокислый или азотнокислый уранил дает с железистосинеродистым калием (желтой кровяной солью).

Реактивы: 1) фосфатный раствор для установки титра тот же, что и для определения фосфатов в крови по способу Белль-Дойзи-Бриггса (стр. 216); 2) ураниловый реактив: отвешивают около 32 г кристаллического уксуснокислого уранила или около 38 г кристаллического азотнокислого уранила, переносят в мерную колбу емкостью в 1 л, отмеривают туда же 6 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты, растворяют в воде без подогревания и доводят водой до метки; титр этого раствора устанавливают по предыдущему раствору (1), как будет описано ниже, так, чтобы 25 см<sup>3</sup> уранилового реактива соответствовали 50 см<sup>3</sup> фосфатного раствора: 1 см<sup>3</sup> исправленного уранилового реактива будет соответствовать 2 мг фосфата; 3) ацетатный буфер: 100 г уксуснокислого натрия растворяют в 800 см<sup>3</sup> воды, приливают 100 см<sup>3</sup> 30‰ уксусной кислоты и доводят водой до 1 л; 4) индикатор: 10‰ раствор железистосинеродистого калия, приготовленный перед употреблением.

Приготовление титрованного раствора. К 50 см<sup>3</sup> раствора фосфорнокислого калия (1) прибавляют 5 см<sup>3</sup> уксусонатриевой смеси (3) и нагревают до кипения. В горячий раствор приливают испытуемый ураниловый раствор из бюретки небольшими порциями до тех пор, пока еще ясно увеличивается количество осадка. Раствор время от времени подогревают. Если количество осадка при прибавлении новой порции уранилового раствора уже ясно не увеличивается, то после каждой новой порции и подогревания берут стеклянной палочкой каплю раствора, помещают ее на белую фарфоровую пластинку и дают ей соединиться с нанесенной рядом каплей железистосинеродистого калия (4). Появление



слабого коричневого окрашивания указывает на конец реакции. Фарфоровую пластинку рекомендуется слегка протереть тряпкой, пропитанной вазелином, чтобы капли сохраняли полушарообразную форму, — в таком случае легче заметить изменение окраски. Рядом с каплей индикатора помещают вторую каплю, чтобы путем сравнения раньше уловить изменение первой капли.

Одновременно ставят слепой опыт, для которого вместо фосфага берут воду; таким путем определяют, какое количество уранилового реактива требуется, чтобы изменение цвета индикатора стало заметным. На титрование 50 см<sup>3</sup> фосфорнокислого калия должно пойти 25 см<sup>3</sup> уранилового раствора; зная, сколько его было потрачено на самом деле, не трудно вычислить, сколько воды нужно добавить в испытуемый раствор, чтобы получить раствор требуемой концентрации.

Ход определения. Титрование мочи производится так же, как только что описанное титрование фосфорнокислого калия. Для титрования берут 50 см<sup>3</sup> мочи; если почему-либо приходится взять меньше мочи, то добавляют недостающее количество воды. Приливают 5 см<sup>3</sup> буферного раствора (3), нагревают, приливают ураниловый реактив и испытывают конец реакции на фарфоровой пластинке.

Если моча очень интенсивно окрашена, то отмеренные 50 см<sup>3</sup> мочи подкисляют соляной кислотой и обесцвечивают кипячением с несколькими каплями марганцовокислого калия; нейтрализуют кислоту эквивалентным количеством раствора едкого натра, после этого добавляют ацетатный буфер и продолжают определение.

Если приходится прибавлять более 25 см<sup>3</sup> уранилового реактива или если титрование почему-либо затянулось, так что температура титруемого раствора упала ниже 60°, то его нужно снова подогреть.

Титрование точнее (конечный пункт легче улавливается), если к титруемому раствору добавить еще один индикатор — насыщенный раствор кошенили в 30° спирте. В колбочку с мочой приливают 1 см<sup>3</sup> этого индикатора. Количество его, при котором лучше всего заметна перемена цвета, не одинаково для различных препаратов и должно быть установлено на практике, поэтому рекомендуется готовить сразу большой запас этого индикатора. Приливание уранилового реактива продолжают до тех пор, пока изменение цвета кошенили не покажет, что конец титрования близок. После этого приливают ураниловый реактив по каплям и после каждых 2—3 капель испытывают с железистосинеродистым калием.

Можно пользоваться в качестве индикатора 10% раствором салициловокислого натрия; этот способ имеет то преимущество, что индикатор прибавляют непосредственно к титруемому раствору, вместо того чтобы определять конец реакции на фарфоровой пластинке.

Вычисление. Из потраченного при титровании количества уранилового реактива вычитают то количество его, которое пришлось потратить в слепом опыте. Разность, умноженная на 2, равна количеству фосфора в миллиграммах во взятом для исследования количестве мочи. Чтобы узнать количество фосфора, выделенного почками за сутки, полученную величину делят на 50 (если это количество мочи было взято для определения) и умножают на объем выделенной за сутки мочи.

Здоровый человек выделяет в течение суток от 1 до 5 г  $P_2O_5$ . Выделение фосфатов повышено при усиленном распаде клеток (например, при лейкемии) и при инфекционных заболеваниях; оно может также увеличиваться при утомительной мышечной работе. Резким колебаниям выделение фосфатов подвергается при рахите, в зависимости от активности процесса.



## СЕРА

Сера содержится в моче в виде неорганических сульфатов, связанных эфиросерных кислот, цистина и т. п. В данном случае имеется в виду определение неорганических сульфатов и эфиросерных кислот.

**Принцип.** Сульфаты осаждают раствором бензидина и определяют количество серной кислоты титрованием едким натром.

**Реактивы:** 1) бензидиновый реактив: 2 г бензидина размешивают в ступке с 5 см<sup>3</sup> воды в равномерную кашу, переносят ее количественно, повторно ополаскивая ступку водой, в мерную колбу емкостью в 1 л, прибавляют 2,5 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты (удельный вес 1,19), тщательно взбалтывают и доводят дистиллированной водой до метки; растворение можно ускорить легким нагреванием; 2) раствор сернокислого бензидина: тщательно взбалтывают 1 г сернокислого бензидина в 1 л дистиллированной воды; нерастворившийся остаток отфильтровывают; к фильтрату прибавляют равное количество воды; 3) концентрированная соляная кислота (удельный вес 1,19); 4) 33% раствор едкого натра; 5) разведенная соляная кислота: к 1 объему концентрированной соляной кислоты приливают 4 объема воды; 6) п/50 раствор едкого натра; 7) 0,05% водный раствор  $\alpha$ -динитрофенола; 8) 1% спиртовой раствор фенолфталеина.

**Ход определения.** 1. Определение свободной серной кислоты (неорганических сульфатов). В центрифужную пробирку емкостью не менее 15 см<sup>3</sup> с острым конусообразным кончиком (см. «Определение кальция в крови») вносят 2 см<sup>3</sup> мочи и приливают 10 см<sup>3</sup> бензидинового реактива (1), все время помешивая, затем 0,2 см<sup>3</sup> динитрофенола (7) и по каплям разведенную соляную кислоту (5) до момента исчезновения желтого цвета, после чего приливают еще 0,5 см<sup>3</sup> той же кислоты (5). Через 10 минут центрифугируют, жидкость сливают или отсасывают. Промывают осадок два раза раствором сернокислого бензидина (2), каждый раз взбалтывая осадок и центрифугируя и сливая жидкость; последняя промывная жидкость не должна вызывать посинения бумажки конго; если же реакция продолжает быть кислой, то повторяют промывание сернокислым бензидином. Жидкость сливают; приливают к осадку 5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и нагревают на водяной бане до кипения; прибавляют 5 капель фенолфталеина и титруют горячий раствор п/50 раствором едкого натра (6), приливая его из микробюретки. 1 см<sup>3</sup> такого раствора едкого натра соответствует 0,98 мг серной кислоты.

2. Определение общего количества серной кислоты. В эрленмейеровскую колбочку отмеривают 25 см<sup>3</sup> мочи и 10 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты (3) и подвергают слабому кипячению в течение 15 минут; дают немного остыть, добавляют 1 г кровавого угля и вновь осторожно кипятят 3 минуты (жидкость сильно пенится). Переносят сильно уменьшившуюся в объеме жидкость количественно в мерную колбочку емкостью в 25 см<sup>3</sup>, повторно ополаскивают водой колбочку, в которой производилось кипячение, доводят этой водой до метки, смешивают, фильтруют сквозь складчатый фильтр. Отмеривают 2 см<sup>3</sup> фильтрата в центрифужку (см. выше), приливают 10 см<sup>3</sup> бензидинового реактива (1) и 0,2 см<sup>3</sup> динитрофенола (7), все время помешивая. Нейтрализуют концентрированным раствором едкого натра (4) до появления желтого цвета и затем прибавляют разведенную соляную кислоту (5) до момента исчезновения желтого окрашивания; дальнейшая обработка — как описано для неорганических сульфатов. При титровании едким натром (6) получается величина, выражающая количество свободной и связанной серной кислоты.



Пример вычисления. При первом титровании было потрачено 2,9 см<sup>3</sup> п/50 раствора едкого натра; следовательно, 100 см<sup>3</sup> мочи содержат:

$$\frac{2,9 \times 0,98 \times 100}{2} = 142,1 \text{ мг свободной серной кислоты.}$$

На второе титрование пошло 4,5 см<sup>3</sup> едкого натра. Количество взятой для определения мочи после разбавления, кипячения и вторичного разбавления соответствовало 2 см<sup>3</sup>, отсюда: 100 см<sup>3</sup> мочи содержат:

$$\frac{4,5 \times 0,98 \times 100}{2} = 220,5 \text{ мг}$$

серной кислоты, а связанной серной кислоты содержится (220,5 — 142,1 =) 78,4 мг в 100 см<sup>3</sup> мочи.

Диагностическое значение. При экспериментальном отравлении бензином и производными анилина в моче животных отмечается резкое изменение соотношения между неорганическими сульфатами и эфиросерными кислотами в пользу последних. При нормальных условиях неорганические сульфаты составляют 85—95% всего количества содержащейся в моче серы и только остальные 5—15% выделяются в связанном виде. В результате окисления бензина в организме образуются фенолы, которые соединяются в печени с сульфатами, образуя эфиросерные кислоты, выделяемые почками, что и является причиной указанного сдвига.

Этот сдвиг пропорционален тяжести отравления, и обнаружить его можно раньше, чем малокровие и лейкопению, обычно служащие признаком отравления бензином.

Некоторые авторы предполагают, что синтетическая способность эфиров может также нарушаться при недостаточности печени (см. «Определение гипшуровой кислоты» (стр. 526).

## АЗОТ

Принцип — см. «Определение остаточного азота в крови» (стр. 180).

Описанный ниже способ дает удовлетворительные результаты. Можно применить также любой из способов, описанных для определения остаточного азота в крови.

Реактивы: 1) смесь для сжигания: к 50 см<sup>3</sup> 50% раствора сернокислой меди приливают 300 см<sup>3</sup> 85% фосфорной кислоты и смешивают; приливают 100 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты, вновь смешивают; серная кислота должна быть высокого качества и не содержать аммиака; жидкость хранят тщательно закрытой, чтобы предотвратить поглощение аммиака из воздуха; 2) 10% раствор полутрахлористого железа; 3) п/10 раствор серной кислоты; 4) п/10 раствор едкого натра; рас- творы (3) и (4) должны соответствовать один другому или же должен быть вычислен фактор; 5) 1% раствор метилрот в 95% спирте; можно держать в капельнице; 6) насыщенный раствор едкого натра.

Оборудование: 1) прибор такого же типа, как для определения остаточного азота в крови, но все части большего размера; 2) кьельда- левские колбы емкостью в 300 см<sup>3</sup> из тугоплавкого стекла, хорошо вы- носящего прокаливание и действие концентрированной едкой щелочи; 3) бюретка на 10—25 см<sup>3</sup>; 4) пипетки в 5 и 10 см<sup>3</sup>.

Ход определения. В кьельдалевскую колбу отмеривают 5 см<sup>3</sup> мо- чи, приливают 5 см<sup>3</sup> минерализующей смеси (1) и 2 см<sup>3</sup> полутрахлори- стого железа (2) и какое-либо из веществ, предотвращающих вспенивание (немного талька). Укрепляют колбу в штативе так, чтобы дно ее нахо- дилось на 1 см выше пламени микрогорелки. Нагревают на полном



пламени до окончания испарения воды и появления густых белых паров; покрывают отверстие колбы часовым стеклом так, чтобы белые пары целиком оставались в колбе. Продолжают нагревать на полном пламени еще несколько минут. Уменьшают пламя, продолжают сжигать на маленьком огне, пока жидкость в колбе из черной не станет сначала зеленой, а затем бесцветной или голубоватой, или слабозеленоватой. Удаляют пламя, дают колбе остыть 4—5 минут, но не более, так как иначе образуется плотный осадок, в дальнейшем плохо растворяющийся; прибавляют около 50 см<sup>3</sup> воды. Приступают к перегонке: в приемник отмеривают точно определенное количество (25—75 см<sup>3</sup>, в зависимости от ожидаемого количества азота) кислоты (3), приливают воды так, чтобы общий объем был около 200 см<sup>3</sup>, и несколько капель метилрота. Весь аппарат собирают. Вливают в кьельдалевскую колбу насыщенный раствор едкого натра, пока содержимое не станет темнобурым или темносиним. Под колбой зажигают слабое пламя. Пускают водоструйный насос. Перегонку продолжают 5 минут от начала сильного кипения. Снимают приемник; для проверки заменяют его новым, который содержит воду, 1—2 капли кислоты и индикатор, и продолжают перегонку, чтобы убедиться, что весь аммиак был перегнан в первый приемник. Титруют жидкость в приемнике п/10 раствором едкого натра. Проводят слепой опыт, сжигая в кьельдалевской колбе воду и оба реактива (1) и (2) и перегоняя точно так же, как было описано для мочи. Из едкого натра, потраченного на титрование пробы, вычитают количество, потраченное на титрование слепого опыта.

**Вычисление.** Разность между отмеренной в приемник кислотой и потраченным на титрование едким натром с поправкой на слепой опыт умножают на 0,014 и получают азот в граммах во взятом для исследования количестве мочи: количество азота в граммах во взятой для исследования порции мочи равно  $0,014 \text{ г} \times (A - B - C)$ , где  $A$  — количество отмеренной в приемник кислоты,  $B$  — количество потраченного при титровании пробы едкого натра,  $C$  — количество едкого натра, потраченного на титрование слепого опыта. Если хотят выразить результат в процентах, умножают на 20; если в абсолютных числах для суточного выделения мочи, то умножают на  $\frac{\text{суточное количество мочи в см}^3}{5}$ .

Если слепой опыт берет больше 0,1—0,3 см<sup>3</sup> п/10 раствора едкого натра, то рекомендуется найти причину и устранить ее. Часто причиной является плохое качество серной кислоты, взятой для сжигания. Азот в моче определяется главным образом для научных работ, в диагностических же лабораториях — при вычислении коэффициентов, характеризующих кислотный сдвиг (см. «Реакция мочи» и «Аммиак»).

## АММИАК

**1) Макроспособ определения аммиака.** При определении аммиака в моче необходимо строгое соблюдение определенных предосторожностей, иначе в ней вновь образуется аммиак или, наоборот, произойдет потеря аммиака из мочи в таком количестве, что результат последующего определения будет извращен. Если моча щелочная, аммиак из нее улетучивается; с другой стороны, рост бактерий может вызвать интенсивное образование аммиака из мочевины и других азотистых соединений. Если предполагается только определение аммиака, то к свежевыпущенной моче прибавляют концентрированную серную или соляную кислоту (отмеренное количество, поскольку в дальнейшем предполагается количественное опре-



деление) и ставят ее на холод (в ледник); однако даже на холоду моча не должна стоять больше 24 часов, так как и при этих условиях мочеви́на подвергается гидролизу. Если предполагаются и другие определения, которые не выполнимы после прибавления кислоты, то единственная возможность получить пригодный для каких-либо выводов результат — это работать со свежесобранной мочой. Если такая возможность исключена, мочу собирают в совершенно чистую посуду, тотчас покрывают слоем толуола, закрывают пробкой и немедленно ставят на ледник; все же исследование должно быть произведено в течение ближайших часов.

**Принцип.** Аммиак освобождают прибавлением щелочи, перегоняют в точно отмеренное количество кислоты и определяют количество ненейтрализованной кислоты посредством обратного титрования щелочью.

**Ход определения.** Прибор для перегонки аммиака состоит из трех цилиндров. Каждый цилиндр плотно закрыт резиновой пробкой, сквозь которую проходят две стеклянные трубки. Лучше иметь прибор, в котором все резиновые части заменены притертыми стеклянными пробками с трубками, наподобие склянок Дрекслея. Стеклянные трубки соединяют все три цилиндра между собой таким образом, что приводящая трубка в каждом цилиндре доходит до его дна, а отводящая заканчивается непосредственно под пробкой. Через приводящую трубку первого цилиндра в него поступает наружный воздух; в этот цилиндр налиты 30—40 см<sup>3</sup> 10% серной кислоты для поглощения содержащегося в воздухе аммиака. Во второй цилиндр (около 25 см<sup>3</sup> высоты и 4—5 см в диаметре) отмеривают 25 см<sup>3</sup> исследуемой мочи, прибавляют 2 г углекислого натрия в субстанции и 10 г щавелевокислого калия; чтобы убедиться, что реакция действительно щелочная, прибавляют несколько капель 1% спиртового раствора фенолфталеина. Во избежание образования пены приливают несколько кубических сантиметров жидкого парафина или толуола или 2—3 капли каприлового или актилового спирта. В отверстие отводящей трубки вкладывают вату, чтобы капли щелочной жидкости не попали с током воздуха в кислоту. В третий цилиндр точно отмеривают 10 см<sup>3</sup> n/10 серной кислоты и 25—30 см<sup>3</sup> воды. Когда жидкость отмерена и пробки плотно вставлены, отводящую трубку третьего цилиндра соединяют с водоструйным насосом и пропускают очень сильную струю воздуха в течение 30 минут. Второй цилиндр, содержащий мочу, ставят в это время в водяную баню (40—45°). По окончании перегонки разъединяют цилиндры. Из третьего цилиндра вынимают пробку, тщательно ополаскивают трубку изнутри и снаружи, прибавляют к кислоте несколько капель раствора метилрот в качестве индикатора и титруют n/10 едким натром до желтого окрашивания. Потраченное при этом количество щелочи вычитают из отмеренной в цилиндр кислоты (т. е. из 10) и разность умножают на 1,7, чтобы получить содержание аммиака в миллиграммах в 25 см<sup>3</sup> мочи, и еще на 4, чтобы выразить его в миллиграмм-процентах.

**2) Микроспособ.** Преформированный аммиак можно отогнать в специальном аппарате (см. главу «Химические исследования крови», стр. 184). Налив небольшое количество (10 см<sup>3</sup>) мочи (разведение 1:10) через воронку в перегонную колбу, подщелачивают ее и осторожно при небольшой подаче пара (во избежание перебрасывания жидкости) производят перегонку. В приемник наливают 10 см<sup>3</sup> n/10 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и титруют n/10 NaOH.

**3) Диагностическое значение.** В суточном количестве нормальной мочи содержится 0,5—1 г аммиака. Количество аммиака обычно изменяется параллельно общему количеству азота и при нормальных условиях составляет 2—5% общего азота. Аммиак образуется в самих почках и в тем большем количестве, чем более кислую реакцию имеет формирующаяся в почках



моча. Поэтому главным регулятором количества выделяемого аммиака является количество кислот и щелочей, вводимых в организм или образующихся в нем в процессе обмена. Еще большим колебаниям оно подвергается при патологических условиях. Количество аммиака резко возрастает при всех заболеваниях, сопровождающихся ацидозом, и может служить для оценки степени ацидоза. Особенно большой интерес представляет количественное определение аммиака при диабете, тем более что измерение количества ацетоновых тел в моче не может служить показателем диабетического ацидоза. Для характеристики степени ацидоза можно пользоваться в качестве показателя отношением:

$$\frac{\text{Азот аммиака} \times 100}{\text{Общий азот}};$$

при pH мочи, равном 5, оно соответствует у здоровых 2,2 — 5,5, а при ацидозе может значительно увеличиваться (стр. 246).

Наоборот, при поражениях почек их способность образовывать аммиак резко уменьшается; количество аммиака в моче, несмотря на ацидоз, не только не увеличивается, но падает почти до нуля, поэтому при тяжелых степенях почечной недостаточности всегда выделяется резко кислая моча. Таким образом, и при почечных заболеваниях определение аммиака может иметь диагностическое значение.

### КРЕАТИНИН И КРЕАТИН

**Принцип.** Креатинин дает со щелочным раствором пикриновой кислоты оранжевое окрашивание, которое после разведения можно колориметрировать со стандартом.

**Реактивы:** 1) п/2 раствор двуххромовокислого калия: отвешивают на точных весах 24,54 г двуххромовокислого калия, растворяют в воде и доводят в мерной колбе водой до 1 л. Раствор стоек и не изменяется в течение нескольких лет. Если растворить 10 мг креатинина в 10 см<sup>3</sup> воды, прибавить 15 см<sup>3</sup> 1,2% раствора пикриновой кислоты и 4—8 см<sup>3</sup> 10% едкого натра, то через 5—10 минут развивается максимальное оранжевое окрашивание жидкости. Можно также приготовить стандартный раствор из креатинина: 0,001 г креатинина смешивают с 20 см<sup>3</sup> насыщенного раствора пикриновой кислоты и 1,5 см<sup>3</sup> 10% едкого натра, оставляют стоять 10 минут и разводят до 100 см<sup>3</sup>. При исследовании мочи этот раствор не представляет преимуществ; 2) 10% раствор едкого натра; 3) насыщенный (1,2%) раствор сухой пикриновой кислоты или 1,5% раствор продажного препарата. Об испытании и очистке препарата пикриновой кислоты см. «Определение креатинина в крови».

Требуется колориметр Дюбоска. Можно пользоваться также колориметром Аутенрита, наливая стандартный раствор в клин.

Если моча содержит ацетон и ацетоуксусную кислоту, то ее перед определением креатинина кипятят несколько минут для разрушения этих веществ.

1) **Определение креатинина.** 10 см<sup>3</sup> свежевыпущенной мочи отмеривают в мерную колбу емкостью в 500 см<sup>3</sup> и прибавляют 15 см<sup>3</sup> пикриновой кислоты (3) и 5 см<sup>3</sup> едкого натра (2); несколько раз встряхивают и оставляют стоять 5 минут. Доводят водой до метки, тщательно смешивают, тотчас переносят в стаканчик колориметра и сравнивают с заранее налитым во второй стаканчик раствором двуххромовокислого калия (1), установленным на 8 мм.

**Вычисление.** При вычислении исходят из приведенного выше фактора — 8 мм для 10 мг креатина. Если среднее из нескольких определе-



ний на колориметре было 7,2 мм, то количество креатинина во взятых для определения 10 см<sup>3</sup> мочи равно:

$$\frac{8,1}{7,2} \times 10 = 11,25 \text{ мг.}$$

Если моча содержит много креатинина, так что стаканчик с мочой приходится устанавливать меньше чем на 5 мм, то повторяют определение с меньшим количеством мочи; если же стаканчик приходится ставить больше чем на 10 мм, то берут большее количество мочи.

**2) Определение креатина.** К 10 см<sup>3</sup> мочи прибавляют 5 см<sup>3</sup> нормального раствора соляной кислоты и нагревают 3 часа на кипящей водяной бане с обратным холодильником (см. главу «Функции почек»); креатин при этом переходит в креатинин. Нейтрализуют нормальным раствором едкого натра и определяют креатинин, как было описано. Из полученной величины вычитают цифру, полученную при определении креатинина, содержавшегося в моче до кипячения. Так как молекулярный вес креатина равен 131, а молекулярный вес креатинина равен 113, то полученную разность надо умножить на  $\left(\frac{131}{113}\right) = 1,16$ .

**Диагностическое значение.** Моча здорового взрослого человека содержит креатинин, но вовсе не содержит креатина; появление последнего в моче вызывается по большей части заболеванием мышц скелета (мышечные атрофии первичные или вторичные); именно при этих заболеваниях определения креатина в моче могут иметь диагностическое значение. Нагрузка свыше 2 г креатина сопровождается креатинурией также и у здоровых взрослых субъектов, тогда как появление его в моче после меньшей нагрузки означает пониженную толерантность, обусловленную по большей части тоже мышечным заболеванием.

Определением креатинина мочи и крови пользуются часто при определении функциональной недостаточности почек.

## МОЧЕВАЯ КИСЛОТА

**1) Титриметрическое определение по Гопкинсу и Фолину.** Принцип. Мочевую кислоту осаждают в виде мочекислото аммония и затем оттитровывают марганцовокислым калием.

**Реактивы:** 1) растворяют 500 г сернокислого аммония приблизительно 600 см<sup>3</sup> дистиллированной воды в мерной колбе емкостью в 1 л; отдельно растворяют в 100 см<sup>3</sup> воды 5 г уксуснокислого уранила; если этого реактива нет, то можно заменить его применяемым в фотографии и легко доступным азотнокислым уранилом; в этом случае растворяют в 100 см<sup>3</sup> воды 6,5 г азотнокислого уранила и 34 г уксуснокислого натрия в качестве буфера, связывающего азотную кислоту; тем или иным способом приготовленный раствор вносят в ту же мерную колбу, приливают туда же 6 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты и доводят водой до метки; 2) жидкость для промывания осадка: растворяют 100 г сернокислого аммония приблизительно в 800 см<sup>3</sup> воды в мерной колбе емкостью в 1 л, приливают 10 см<sup>3</sup> 25% аммиака и доливают воды до метки; удобно иметь эту жидкость в колбе для промывания с тонко оттянутым кончиком; 3) концентрированная химически чистая серная кислота; 4) 25% аммиак; 5) п/50 раствор марганцовокислого калия, приготовленный перед употреблением из десяти-нормального.

**Ход исследования.** В пробирку отмеривают точно 8 см<sup>3</sup> мочи, прибавляют 2 см<sup>3</sup> уранилового реактива (1), оставляют до полного осаждения осадка и фильтруют. Из прозрачного фильтрата отмеривают точно



7,5 см<sup>3</sup> (что соответствует 6 см<sup>3</sup> мочи), наливают в пробирку от центрифуги, прибавляют 10—15 капель аммиака (4), закрывают пробкой и оставляют до следующего утра: мочева кислота осаждается в виде моче-кислого аммония. Центрифугируют до полного просветления жидкости, сливают ее, приливают 6—8 см<sup>3</sup> сернокислого аммония (2) и еще раз центрифугируют и сливают жидкость (промывание осадка). К осадку приливают 3—4 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и 1 см<sup>3</sup> серной кислоты (3) — жидкость разогревается; смешивают при помощи стеклянной палочки и титруют горячую жидкость марганцовокислым калием (5) до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 10 секунд.

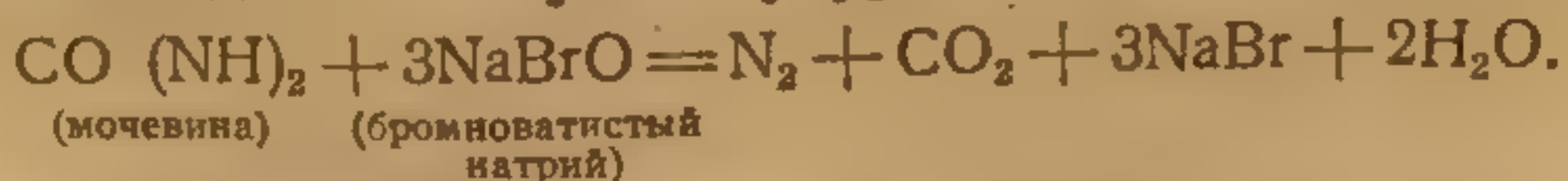
Вычисление. 1 см<sup>3</sup> n/50 раствора марганцовокислого калия соответствует 0,00150 г (1,5 мг) мочево кислоты, поэтому потраченное при титровании количество кубических сантиметров марганцовокислого калия умножают на 1,5. Результат соответствует количеству миллиграммов мочево кислоты во взятом для исследования количестве мочи (6 см<sup>3</sup>). Для определения количества мочево кислоты в миллиграмм-процентах найденное количество делят на 6 и умножают на 100. К этой величине прибавляют 3 мг, так как небольшое количество моче-кислого аммония, вследствие его растворимости, теряется.

2) **Диагностическое значение.** Здоровые выделяют в течение суток 0,2—0,6 г эндогенной мочево кислоты; при обычном пищевом режиме выделяется в сутки в среднем около 0,7 г. Количество мочево кислоты увеличивается при патологических состояниях, связанных с усиленным распадом клеток: при лейкемии и различных лейкоцитозах, лихорадке, рассасывании экссудатов или пневмонического очага, ожогах и т. п., а также при приеме атофана. При воспалительных процессах в почке количество мочево кислоты уменьшается; от диуреза оно не зависит. При подагре количество эндогенной мочево кислоты обычно находится на нижней границе нормы или даже уменьшено. Чтобы распознать подагру, определяют у больного количество мочево кислоты в суточной моче в течение нескольких дней (предшествующий период) при однообразной диете, затем в день опыта дают пищу, богатую мочево кислотой (зобную железу или 400 г жареной телячьей печени), и продолжают определять суточное выделение мочево кислоты (последующий период), пока оно не сравняется с выделением в течение предварительного периода. У здоровых наблюдается резкое, но кратковременное (1—2 дня) повышение выделения мочево кислоты; у подагриков последующий период продолжается дольше, чем у лиц с нормальным обменом, и затягивается на 4—5 дней, причем подъем кривой выделения менее высок.

## МОЧЕВИНА

1) **Определение в аппарате Бородин.** В СССР наиболее распространен способ количественного определения мочевины посредством разложения ее бромноватистой щелочью в аппарате Бородин.

При разложении мочевины бромноватистой щелочью азот выделяется в газообразном виде по следующему уравнению:



По объему выделившегося азота вычисляют содержание мочевины.

**Прибор Бородин.** Главная часть его представляет собой длинную градуированную стеклянную трубку; самая верхняя часть этой трубки отделена от остальной трубки посредством двухходового крана: при



одном положении он соединяет верхнюю и нижнюю части трубки, при другом — жидкость из верхней части трубки вытекает наружу. На нижний конец трубки надевают длинную резиновую трубку, соединяющую ее с небольшим стеклянным вместилищем, безразлично, какой формы, обычно тоже в виде широкой стеклянной неградуированной трубки.

Реактивы: 1) бромоватистый натрий: 300 г едкого натра растворяют в 1 л воды; когда раствор остыл, прибавляют понемногу 50 г чистого брома, постоянно помешивая и охлаждая сосуд снаружи; работу с бромом необходимо производить под тягой, так как пары его очень сильно раздражают слизистые оболочки; готовый раствор переливают в темную склянку и хранят в темном месте; при соблюдении этой предосторожности он не портится в течение 2—3 месяцев; 2) насыщенный раствор хлористого натрия: около 400 г хлористого натрия помещают в химический стакан, наливают около 1 л воды и нагревают до растворения соли; к раствору прибавляют немного соды; когда раствор остынет, его фильтруют.

Ход исследования. Прибор Бородин укреплению на штативе так, чтобы лапка держателя была немного выше крана. Кран поворачивают так, чтобы части сообщались между собой. В трубку наливают солевой раствор (2), пока часть его не покажется над краном; ни в стеклянной части, ни в резиновой трубке не должно оставаться пузырьков воздуха. После этого поворотом крана разобщают сосуды и выливают из верхней части трубки солевой раствор. Нижняя трубка должна содержать раствор до крана. Этим заканчивается подготовка прибора для анализа.

Определяют удельный вес испытуемой мочи: более концентрированную (выше 1025) мочу разводят в 10 раз, менее концентрированную — в 5 раз. Для этого 5 см<sup>3</sup> профильтрованной мочи переносят в стакан с носиком и приливают 20 или 45 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Разбавленной таким образом мочой ополаскивают 2—3 раза верхнюю трубку, наливая немного мочи сверху и выпуская ее через боковой кран. После этого наливают мочу до нулевого деления; необходимо убедиться в том, что в нижней части трубки (около крана) не осталось воздуха; в случае надобности его удаляют проволокой. Трубку следует укрепить теперь на более низком уровне. Поворачивают кран так, чтобы моча медленно стекала в нижнюю часть; спускают 5—8 см<sup>3</sup>; закрывают кран и точно отмечают по делениям, нанесенным на стенке трубки, сколько мочи перешло в нижнюю часть. Ввиду того что насыщенный солевой раствор значительно тяжелее мочи, моча с ним не смешивается, а наслаивается на него. Оставшуюся в трубке мочу выливают и наливают туда же бромоватистого натрия (1). Так как стенки трубки были смочены мочой, то содержащаяся в ней мочевины начинает разлагаться, образуя пузырьки газа. Когда выделение их прекратится, их выгоняют проволокой, после чего поворачивают кран и очень медленно и осторожно спускают несколько кубических сантиметров реактива в нижнюю трубку. Кран закрывают, выжидают конца выделения пузырьков, вновь спускают несколько кубических сантиметров реактива и т. д., пока новая порция реактива уже не вызывает образования пузырьков газа. Постукиванием по стенкам стеклянной трубки и по резиновой трубке собирают все пузырьки газа кверху, так, чтобы весь газ собрался между жидкостями; в углублении под самым краном остается небольшое количество жидкости, которое не отражается на точности определения объема газа, так как деления нанесены несколько ниже. Если жидкости в этой части нет, то, осторожно открывая кран, спускают немного реактива. Когда объем газа перестает увеличиваться, обычно через 12—15 минут, поднимают трубку так, чтобы уровень жидкости в ней был на одном уровне

с жидкостью в  
по делениям. В  
барометра и на  
жидкость, находя  
Так как соде  
принять во  
давления 0,00  
Зная температу  
составляют сле

где  $P$  — иско  
в миллиметрах,  
туре излучени  
таким путем ко  
вны это количе  
соответствуют  
лучается из 2,  
умножить на э  
пень разведени  
также от взят  
Таким образом

$X =$

где  $n$  — число  
ложенном выш  
(20 или 45 см<sup>3</sup>  
реведенной в т  
би, может бы  
строчке табл  
казаниям бар  
таким же об  
личина, соот  
рез  $a$ , то пр

т. е. если,  
предварите  
следование  
то содержи

т. е. моча  
При  
няющий а  
служит о  
вытягиван  
вставляю  
на которо  
с укрепл  
100—150



с жидкостью в подвижном колене, и отмечают объем, занимаемый газом, по делениям, нанесенным на стенке. Одновременно отмечают показания барометра и измеряют температуру жидкости, погружая термометр в жидкость, находящуюся над краном.

Так как содержание мочевины обычно выражают в граммах, то нужно принять во внимание, что 1 см<sup>3</sup> чистого азота весит при 0° и 760 мм давления 0,0012508 г, а коэффициент расширения азота равен 0,00367. Зная температуру измеренного газа и давление, под которым он находится, составляют следующую формулу:

$$P = \frac{V \times (b - f) \times 0,0012508}{760 \times (1 + 0,00367 \times t^{\circ})},$$

где  $P$  — искомый вес полученных  $V$  см<sup>3</sup> азота,  $b$  — барометрическое давление в миллиметрах,  $f$  — упругость водяного пара в миллиметрах Hg при температуре наблюдения ( $t^{\circ}$ ), выраженной в градусах Цельсия (см. ст. 770). Вычислив таким путем количество азота, мы должны узнать, из скольких граммов мочевины это количество было получено. Так как 60,048 весовых частей мочевины соответствуют 28,016 весовым частям азота, то 1 весовая часть азота получается из 2,143 весовых частей мочевины; найденный вес азота следует умножить на эту величину. Далее, необходимо принять во внимание степень разведения мочи и умножить найденную величину на разведение, а также от взятого для разложения количества мочи перейти к 100 см<sup>3</sup>. Таким образом, получается следующая формула:

$$X = V \times \frac{(b - f) \times 0,0012508 \times 2,143}{760 \times (1 + 0,00367 \times t^{\circ})} \times \frac{n + N}{n} \times \frac{100}{n_1},$$

где  $n$  — число кубических сантиметров мочи, взятой для разведения (в изложенном выше описании — 5 см<sup>3</sup>),  $N$  — число кубических сантиметров воды (20 или 45 см<sup>3</sup>), а  $n_1$  — число кубических сантиметров разведенной мочи, переведенной в трубку для анализа. Вся величина, соответствующая первой дроби, может быть найдена в приложенной таблице (стр. 356 и 357): в верхней строчке таблицы указано барометрическое давление, соответствующее показаниям барометра во время исследования; в первой вертикальной строчке таким же образом указана температура; на месте пересечения указана величина, соответствующая всей дроби. Если обозначить эту величину через  $a$ , то приведенная выше формула упростится следующим образом:

$$X = V \times a \times \frac{n + N}{n} \times \frac{100}{n_1},$$

т. е. если, например, было получено под краном 11,2 см<sup>3</sup> газа, моча была предварительно разведена в 6 раз и переведено для анализа 9,5 см<sup>3</sup>, а исследование было произведено при 21° и барометрическом давлении в 748 мм, то содержание мочевины в 100 см<sup>3</sup> мочи равно:

$$\frac{11,2 \times 2,380 \times (5 + 25) \times 100}{5 \times 9,5} = 1683 \text{ мг, или } 1,68 \text{ г,}$$

т. е. моча содержит 1,68% мочевины.

При отсутствии стеклодува можно самому изготовить прибор, заменяющий аппарат Бородина. Для измерения количества выделившегося газа служит обыкновенная бюретка без стеклянного крана. Верхний конец ее вытягивают, чтобы можно было надеть на него резиновую трубку, или вставляют в него пробку с пропущенной через нее стеклянной трубкой, на которой укрепляют резиновую трубку. Эта трубка соединяет бюретку с укрепленной на штативе широкогорлой стеклянной банкой емкостью 100—150 см<sup>3</sup>, которая герметически закрыта резиновой пробкой с пропущен-



ной через нее стеклянной трубкой, служащей для укрепления на ней резиновой трубки. В склянку опущена в косом положении пробирка. На нижний конец бюретки надевают резиновую трубку с согнутой под прямым углом стеклянной частью, которая опущена в стоящую на столе банку с водой. Бюретку заполняют водой и, подняв эту банку, устанавливают уровень воды на нулевом делении. Того же можно достигнуть, вводя в начальную часть верхней резиновой трубки тройник: через боковую ветвь, снабженную резиновой трубкой и винтовым зажимом, можно поднимать воду в бюретке до нужного уровня. В верхнюю склянку отмеривают 15 см<sup>3</sup> бромноватистой щелочи; в пробирку отмеривают точно 1 см<sup>3</sup> мочи. Склянку плотно закрывают пробкой и ставят на прежнее место; во время отмеривания в нее жидкости желательно не держать склянку в руках, чтобы не разогреть ее; во время реакции ее погружают в банку с холодной водой. Нижнюю банку ставят обратно на стол. Вновь берут верхнюю склянку, держа ее за пробку, чтобы не согреть стенки, и, изменяя положение ее и лежащей внутри нее пробирки, достигают полного смешения обеих жидкостей, после чего вновь помещают склянку в резервуар с холодной водой. Когда выделение газа прекратится и не будет возобновляться при повторном побалтывании жидкостей, то считывают уровень и определяют объем выделившегося газа (табл. 44).

Таблица 44

Определение величины  $a = \frac{(b - f) \times 0,0012508 \times 2,143}{760 \times (1 + 0,00367)}$  (по Бородину)

	735	736	737	738	739	740	741	742	743	744	745	746	747	748
12	2,413	2,446	2,449	2,453	2,456	2,459	2,463	2,466	2,470	2,473	2,476	2,480	2,483	2,486
13	2,431	2,435	2,438	2,441	2,445	2,448	2,451	2,455	2,458	2,461	2,465	2,468	2,472	2,475
14	2,420	2,423	2,426	2,430	2,433	2,437	2,440	2,443	2,447	2,450	2,453	2,457	2,460	2,463
15	2,408	2,412	2,415	2,418	2,422	2,425	2,428	2,432	2,435	2,438	2,442	2,445	2,448	2,452
16	2,397	2,400	2,403	2,407	2,410	2,413	2,417	2,420	2,423	2,427	2,430	2,433	2,437	2,440
17	2,385	2,389	2,391	2,395	2,398	2,402	2,405	2,408	2,412	2,415	2,418	2,422	2,425	2,428
18	2,373	2,377	2,380	2,383	2,387	2,390	2,393	2,397	2,400	2,403	2,406	2,410	2,413	2,416
19	2,362	2,365	2,368	2,371	2,375	2,378	2,381	2,385	2,388	2,391	2,394	2,398	2,401	2,404
20	2,350	2,353	2,356	2,360	2,363	2,366	2,369	2,373	2,376	2,379	2,383	2,385	2,390	2,392
21	2,338	2,341	2,344	2,347	2,351	2,354	2,357	2,360	2,364	2,367	2,370	2,374	2,377	2,380
22	2,325	2,329	2,332	2,335	2,338	2,342	2,345	2,348	2,352	2,355	2,358	2,361	2,365	2,368
23	2,313	2,316	2,320	2,323	2,326	2,329	2,333	2,336	2,329	2,342	2,346	2,349	2,352	2,355
24	2,301	2,304	2,307	2,311	2,314	2,317	2,320	2,323	2,327	2,330	2,333	2,336	2,340	2,343

	749	750	751	752	753	754	755	756	757	758	759	760	761	762
12	2,490	2,493	2,496	2,500	2,503	2,507	2,510	2,513	2,517	2,521	2,523	2,527	2,530	2,533
13	2,478	2,482	2,485	2,488	2,492	2,495	2,498	2,502	2,505	2,509	2,512	2,515	2,519	2,522
14	2,467	2,470	2,473	2,477	2,480	2,483	2,487	2,490	2,493	2,497	2,500	2,504	2,507	2,510
15	2,455	2,458	2,462	2,465	2,468	2,471	2,475	2,478	2,482	2,485	2,488	2,492	2,495	2,498
16	2,443	2,447	2,450	2,453	2,457	2,460	2,463	2,467	2,470	2,473	2,477	2,480	2,483	2,486
17	2,431	2,435	2,438	2,441	2,445	2,448	2,451	2,455	2,458	2,461	2,465	2,468	2,471	2,474
18	2,420	2,423	2,426	2,430	2,433	2,436	2,439	2,443	2,446	2,449	2,453	2,456	2,459	2,462
19	2,408	2,411	2,414	2,417	2,421	2,424	2,427	2,431	2,433	2,437	2,440	2,444	2,447	2,450
20	2,396	2,399	2,402	2,405	2,409	2,412	2,415	2,419	2,422	2,425	2,428	2,432	2,435	2,438
21	2,383	2,387	2,390	2,393	2,396	2,400	2,403	2,406	2,409	2,413	2,416	2,419	2,423	2,426
22	2,371	2,374	2,378	2,381	2,384	2,387	2,391	2,394	2,397	2,400	2,404	2,407	2,410	2,413
23	2,359	2,362	2,365	2,368	2,371	2,375	2,378	2,381	2,384	2,387	2,391	2,394	2,397	2,401
24	2,346	2,349	2,352	2,356	2,359	2,362	2,365	2,369	2,372	2,375	2,378	2,382	2,385	2,388



	763	764	765	766	767	768	769	770	771	772	773	774	775	776
12	2,537	2,540	2,543	2,547	2,550	2,554	2,557	2,561	2,564	2,567	2,571	2,574	2,577	2,581
13	2,525	2,529	2,532	2,535	2,539	2,542	2,545	2,549	2,552	2,556	2,559	2,562	2,565	2,569
14	2,514	2,517	2,520	2,524	2,527	2,530	2,534	2,537	2,540	2,544	2,547	2,550	2,554	2,557
15	2,502	2,505	2,508	2,512	2,515	2,518	2,522	2,525	2,528	2,532	2,535	2,538	2,542	2,545
16	2,490	2,493	2,496	2,500	2,503	2,506	2,510	2,513	2,516	2,520	2,523	2,526	2,530	2,533
17	2,478	2,481	2,484	2,488	2,491	2,494	2,498	2,501	2,504	2,508	2,511	2,514	2,518	2,521
18	2,466	2,469	2,472	2,476	2,479	2,482	2,485	2,489	2,492	2,495	2,499	2,502	2,505	2,509
19	2,454	2,457	2,460	2,464	2,467	2,471	2,473	2,477	2,480	2,483	2,486	2,490	2,493	2,496
20	2,441	2,445	2,448	2,451	2,454	2,458	2,461	2,464	2,468	2,471	2,474	2,477	2,481	2,484
21	2,429	2,432	2,436	2,439	2,442	2,445	2,449	2,452	2,455	2,458	2,462	2,465	2,468	2,471
22	2,417	2,420	2,423	2,426	2,430	2,433	2,436	2,439	2,443	2,446	2,449	2,452	2,456	2,459
23	2,404	2,407	2,410	2,414	2,417	2,420	2,423	2,427	2,430	2,433	2,436	2,440	2,443	2,446
24	2,391	2,394	2,398	2,401	2,404	2,407	2,411	2,414	2,417	2,420	2,423	2,426	2,430	2,433

2) **Определение в аппарате Коварского.** Способ в основном тот же, что и первый. Аппарат Коварского имеет то преимущество перед аппаратом Бородина, что он целиком состоит из стекла, и поэтому легче наблюдать за ходом реакции и мыть прибор.

Описание способа и изображение аппарата см. «Определение мочевины в крови» (стр. 201). Реактивы те же.

Здоровый человек выделяет в сутки 25—35 г мочевины. Колебания зависят главным образом от состава пищи: количество ее увеличивается при патологическом распаде белков (лихорадка) и уменьшается при диффузных поражениях печени.

## ДИАСТАЗА

**Реактивы:** 1) физиологический (0,85%) раствор хлористого натрия; 2) раствор крахмала: 60—70 см<sup>3</sup> физиологического раствора хлористого натрия (1) нагревают в стакане до кипения; отдельно наливают в пробирку 2—3 см<sup>3</sup> того же раствора, всыпают туда 1 г растворимого крахмала, тщательно размешивают его стеклянной палочкой и вливают тонкой струей в кипящий раствор; смешивают; пробирку несколько раз ополаскивают небольшими порциями физиологического раствора, выливая каждый раз в тот же стакан; дают вскипеть; по охлаждении переносят в мерную колбу емкостью в 100 см<sup>3</sup> и доливают физиологическим раствором до метки; этот 1% раствор крахмала разводят в 10 раз физиологическим раствором; к 90 см<sup>3</sup> полученного таким образом 1% раствора приливают 10 см<sup>3</sup> буферного раствора фосфатов, имеющего рН=7,2 (стр. 138), и 10 см<sup>3</sup> толуола; при хранении в прохладном месте без доступа света раствор стоек в течение 3 месяцев; 3) приблизительно 0,50 раствор иода: 20 см<sup>3</sup> 0,10 раствора отмеривают в мерную колбу емкостью в 100 см<sup>3</sup> и доводят водой до метки.

**Ход исследования.** В штатив ставят 15 пробирок и в каждую, кроме первой, наливают по 1 см<sup>3</sup> физиологического раствора (1). В первую и во вторую пробирку отмеривают по 1 см<sup>3</sup> испытуемой мочи, смешивают; из второй пробирки отсасывают пипеткой 1 см<sup>3</sup>, переносят в третью пробирку и смешивают; переносят 1 см<sup>3</sup> в четвертую пробирку и т. д. до пятнадцатой, из которой 1 см<sup>3</sup> отсасывают и выливают. Таким образом, объем жидкости в каждой пробирке равен 1 см<sup>3</sup>, причем первая из них содержит неразведенную мочу, а дальше разведение нарастает



в геометрической прогрессии: 2, 4, 8 и т. д. В каждую пробирку наливают по 2 см<sup>3</sup> 1<sup>0</sup>/<sub>00</sub> раствора крахмала (2) и ставят весь штатив на 15 минут в водяную баню при точно 45°. По истечении указанного срока штатив переносят в холодную воду, чтобы прекратить действие фермента. После этого в каждую пробирку, начиная с последней, прибавляют по одной капле п/50 раствора иода (3) и наблюдают за стойкостью появившегося в пробирках окрашивания (синего, красно-синего, красного или желтого). Если окраска быстро исчезает, то продолжают прибавлять по каплям иод, пока она не будет держаться несколько минут.

**Вычисление.** В той пробирке, где жидкость окрашена в синий цвет, диастатического действия, очевидно, не было, а оно закончилось в предыдущем разведении. Если, например, в шестой пробирке еще имеется непереваренный крахмал, то вычисляют, какое количество мочи содержится в предшествующей (пятой) пробирке, в которой совсем нет синего оттенка.

Если  $\frac{1}{16}$  см<sup>3</sup> мочи переваривает 2 см<sup>3</sup> крахмала, то 1 см<sup>3</sup> мочи может переварить 32 см<sup>3</sup>. Результат принято указывать следующим образом:

$$d \text{ (диастаза)} \frac{45^\circ}{15} = 32 \text{ (для данного случая).}$$

Диастаза содержится во всякой нормальной моче, но в небольшом количестве. У здоровых  $d \frac{45^\circ}{15} = 16 - 64$ ; если  $d$  при тех же условиях выше 128, то это указывает на имеющееся заболевание. Содержание диастазы повышается при закрытии выводящего протока поджелудочной железы, а также при панкреатитах, некротических процессах в железе, заболеваниях желчных путей и т. д. В этих случаях количественное определение диастазы в моче может иметь дифференциально-диагностическое значение. Надо, однако, помнить, что при продолжительной закупорке количество диастазы в моче может вновь уменьшиться (стр. 236).

При почечной недостаточности диастаза в моче отсутствует.

### АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА (ВИТАМИН С)

Принцип основан на восстановительных свойствах аскорбиновой кислоты; в качестве восстанавливаемого вещества употребляется краска 2—6-дихлорфенолиндофенол, которая при восстановлении из синей переходит в слабозеленую.

**Реактивы:** 1) 2,6-дихлорфенолиндофенол 0,02% (свежеприготовленный) раствор; 2) 2,6-дихлорфенолиндофенол п/1000 раствор; 3) железосинеродистый калий — насыщенный раствор; 4) перманганат калия п/100 раствор; 5) соль Мора п/100  $\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 6) соляная кислота 10%; 7) уксусная кислота концентрированная; 8) хлорное железо 1%; 9) щавелевокислый аммоний — насыщенный раствор.

**Установка титра раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола.** Установить титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола можно по навеске аскорбиновой кислоты или по иоду (1 см<sup>3</sup> п/100 раствора иода соответствует 0,88 мг аскорбиновой кислоты) и по соли Мора, нормальность которой устанавливается по п/100 раствору перманганата калия.

а) **Определение нормальности раствора соли Мора.** В маленькую колбочку или стаканчик отмеривают из микробюретки 2 мл раствора соли Мора и титруют п/100 раствором перманганата калия из



микробюретки до появления стойкого розового окрашивания. На основании результатов титрования вычисляют нормальность раствора соли Мора.

б) Определение нормальности раствора индикатора 2,6-дихлорфенолиндофенола. В колбочку отмеривают 5 см<sup>3</sup> раствора индикатора, добавляют 3 см<sup>3</sup> насыщенного раствора щавелевокислого аммония и титруют синий раствор раствором соли Мора из микробюретки до появления желтой окраски. На основании титрования вычисляют нормальность раствора индикатора. Зная нормальность индикатора, вычисляют его титр по аскорбиновой кислоте, исходя из того, что 1 см<sup>3</sup> п/1000 раствора индикатора соответствует 0,088 мг аскорбиновой кислоты.

в) Определение витамина С в моче. Отмеривают 10 см<sup>3</sup> мочи в колбу; на 200 см<sup>3</sup> добавляют 100 см<sup>3</sup> воды и 1 см<sup>3</sup> концентрированной уксусной кислоты. Титруют п/1000 раствором индикатора до розовой окраски. Вычисляют содержание витамина С в суточном количестве мочи.

Расчет: количество израсходованного при титровании индикатора умножают на 0,088 мг.

Количество аскорбиновой кислоты, выведенное с мочой за сутки, показывает насыщение организма витамином и связано с количеством кислоты, введенной с пищей. При малом количестве аскорбиновой кислоты в моче следует сделать определение насыщения витамином организма. Для этого лучше всего вводить препарат внутривенно и следить за его выделением. В случае недонасыщенности организма повышение выделения при нагрузке будет незначительным и скоропроходящим. Недонасыщение наблюдается при эндогенном высоком потреблении аскорбиновой кислоты, например, при инфекциях, воспалительных процессах, в послеоперационный период, особенно когда применяется общий наркоз, и т. д.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА В<sub>1</sub>

Для определения витамина В<sub>1</sub> в моче пользуются тиохромным методом Янсена.

Принцип метода заключается в том, что содержащийся в каком-либо веществе витамин подвергается окислению в щелочном растворе красной кровяной солью в тиохром, который обладает способностью давать синюю флюоресценцию в ультрафиолетовом свете. Интенсивность флюоресценции сравнивается со стандартом.

Реактивы: 1)  $K_3Fe(CN)_6$  — 2% водный раствор; 2) NaOH — 30% водный раствор; 3) этиловый спирт обезвоженный; 4) изобутиловый спирт химически чистый; 5) раствор тиаминхлорида или тиаминбромид (в ампулах употребляется для внутривенных инъекций); 5а) основной стандартный раствор. Для приготовления этого раствора могут служить препараты витамина В<sub>1</sub> — тиаминбромид или тиаминхлорид — в ампулах. Этот витамин разводят водой в мерной колбе с таким расчетом, чтобы в 1 см<sup>3</sup> раствора было 3γ витамина. Раствор подкисляют до pH = 3,0 при помощи п/10 HCl; в таком виде при содержании на льду он может храниться около месяца.

Из этого основного раствора каждый раз при определении витамина В<sub>1</sub> готовится рабочий стандартный раствор (5а) следующим образом: 1 см<sup>3</sup> основного раствора вносят в пробирку с притертой пробкой и обрабатывают как мочу, т. е. прибавляют одну каплю  $K_3Fe(CN)_6$ , подщелачивают, извлекают изобутиловым спиртом. В результате получается флюоресцирующий стандартный раствор.



Необходимая посуда и аппаратура (специальная): 1) пробирки с притертыми пробками и плоским дном из бесцветного стекла, градуированные на 15 см<sup>3</sup>; 2) флюориметр или люминесцентный осветитель. В случае отсутствия того и другого необходимо иметь кварцевую лампу и кусок уволетового стекла (Вуда).

Ход определения. Вся процедура делится на пять основных этапов:

1. Предварительное промывание мочи (экстракция флюоресцирующих веществ). Отмеривают во флакон с притертой пробкой 10 см<sup>3</sup> мочи (подкисленной 2 каплями 10% HCl) и равный объем изобутилового спирта, тщательно взбалтывают в продолжение 3 минут, оставляют стоять до полного расслоения мочи и изобутилового спирта (10—15 минут).

2. Окисление. Осторожно отсасывают нижний слой мочи и наливают ее по 1 см<sup>3</sup> в 3 градуированные пробирки с плоским дном и притертой пробкой с меткой на 15 см<sup>3</sup> (или мерные цилиндры). К первым двум пробиркам добавляют по 1 см<sup>3</sup> 30% NaOH и смешивают. Далее, в первый цилиндр добавляют 2% раствор  $K_3Fe(CN)_6$  из градуированной пипетки или микроюретки, постепенно, капля за каплей, перемешивая, пока цвет не сделается несколько более желтым, чем во втором цилиндре, где нет  $K_3Fe(CN)_6$ ; раствор второго цилиндра употребляется исключительно для слепого опыта. Очень важно избегать избытка красной кровяной соли. Слабый цвет должен сохраняться по крайней мере в продолжение полуминуты. Замечают потребовавшийся объем раствора  $K_3Fe(CN)_6$ .  $K_3Fe(CN)_6$  употребляется в количестве, зависящем от содержания тиохрома, в среднем 0,1—0,2 см<sup>3</sup> [пробирка № 1 служит только для определения необходимого количества раствора  $K_3Fe(CN)_6$  и более не употребляется]. В пробирку № 3, в которой не было NaOH, добавляют такой же объем  $K_3Fe(CN)_6$ , смешивают и прибавляют 1 см<sup>3</sup> 30% раствора NaOH. Снова смешивают и оставляют стоять на 1 минуту.

3. Экстрагирование тиохрома из мочи. К обеим пробиркам [пробирка № 2 содержит мочу + NaOH и пробирка № 3 — мочу +  $K_3Fe(CN)_6$  + NaOH] прибавляют по 10 см<sup>3</sup> изобутилового спирта, взбалтывают 2 минуты и оставляют стоять, давая слоям разделиться.

4. Промывание и просветление. Пробирку № 3 (испытываемую) и № 2 (слепую) обрабатывают одинаково следующим образом: нижний слой (мочу) удаляют пипеткой (лучше Мора на 5 см<sup>3</sup>), снабженной резиновой грушей. Затем в каждую пробирку прибавляют по 4 см<sup>3</sup> воды и сильно встряхивают в течение 1 минуты. Контрольная проба показала, что при этих условиях в водный слой не переходит заметного количества тиохрома. Снова дают слоям разделиться, для чего необходимо 20—30 минут. Нижний водный слой отсасывают и выбрасывают. Для просветления экстракта добавляют по 1 см<sup>3</sup> обезвоженного этилового спирта, размешивают и доводят изобутиловым спиртом до метки 15.

5. Сравнение флюоресценции. Обе пробирки помещают рядом перед окошком ультрафиолетовой лампы со стеклом Вуда или люминесцентного осветителя, наклоняя их приблизительно под углом 60° к горизонтали. Далее, из градуированной пипетки (удобнее микроюретки) добавляют по каплям в пробирку (титруют) со слепым опытом (№ 2) стандартный раствор (5а), до тех пор пока флюоресценция в ней не сравняется с флюоресценцией в пробирке с испытуемым раствором (№ 3). Параллельно в пробирку № 3 добавляют объем изобутилового спирта, равный объему прибавленного стандартного раствора, добавленного в



слепой опыт так, чтобы сделать конечные объемы в обеих пробирках равными. После каждого добавления пробирки следует тщательно перемешивать.

Вычисления. Количество витамина  $B_1$ , содержащегося в суточной моче, вычисляют, принимая во внимание объем употребленного стандартного раствора, пошедший на титрование, по следующей формуле:

$$\frac{x \cdot y \cdot V}{15 \cdot v},$$

где  $x$  — количество употребленного стандартного раствора,  $y$  — концентрация витамина  $B_1$  в основном стандартном растворе в  $\gamma$  на 1 см<sup>3</sup>,  $V$  — суточное количество мочи,  $v$  — объем мочи, взятой для исследования, 15 — конечный объем титруемого раствора.

Пример вычисления. При титровании ушло 0,5 см<sup>3</sup> стандартного раствора, содержащего 3  $\gamma$  витамина в 1 см<sup>3</sup>. Количество суточной мочи — 1500 см<sup>3</sup>. Подставляем данные цифры в формулу:

$$\frac{0,5 \cdot 3 \cdot 1500}{1 \cdot 15} = 150 \gamma \text{ витамина выведено за сутки.}$$

При определении количества витамина после нагрузки следует готовить более концентрированный стандартный раствор, содержащий 10—15  $\gamma$  в 1 см<sup>3</sup>.

Очистка изобутилового спирта. Так как чистый изобутиловый спирт очень дефицитен, то при применении его следует предварительно проверить на флюоресценцию, а при ее обнаружении подвергать спирт очистке. Очистка производится путем перегонки, но так как последняя требует специального оборудования, большой точности соблюдения условий температуры и навыка, то достаточным является абсорбция флюоресцирующих веществ древесным углем. Загрязненный спирт помещают в банку с притертой пробкой, куда прибавляют сильно измельченный древесный уголь из расчета 10 г на 100 см<sup>3</sup> спирта. Затем все взбалтывают в течение 2 часов в шютель-аппарате, отстаивают и фильтруют через двойной слой фильтровальной бумаги. Обычно после такой очистки даже ранее использованный и резко флюоресцирующий спирт становится совершенно чистым.

Клиническое значение. Количество тиамин, выделяющегося с мочой за сутки, при смешанной диете  $150 \pm 50 \gamma$ . Эта величина может значительно увеличиваться при богатой витаминами пище. При недостатке витамина в пище количество его падает. Одновременно увеличивается выделение промежуточных продуктов углеводного обмена (пировиноградная, молочная кислота). При лихорадочных заболеваниях, сердечной недостаточности, когда потребление углеводов увеличено, увеличивается и потребление витамина  $B_1$ . Представляет большой интерес определение выведения витамина после введения тиамин в вену. При недостатке витамина в организме выводится только небольшой его процент. При пище с недостаточным количеством белков потребление витамина затрудняется (нарушается, возможно, синтез фермента карбоксилазы), и витамин выводится мочой.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

1) Определение ртути. Принцип метода основан на извлечении ртути из мочи и колориметрическом определении ее в виде иодистого медно-ртутного комплекса  $CuI \cdot HgJ_2$ . Метод состоит из трех этапов: 1) осаждение ртути из мочи яичным белком; 2) извлечение ртути из осадка раствором иода в иодистом калии; 3) определение иона ртути по микрометоду Полежаева.



Реактивы: 1) 5% водный раствор уксусной кислоты; 2) 0,5% раствор хлористого натрия (физиологический раствор); 3) раствор яичного белка в физиологическом растворе 1:3; свежий яичный белок в цилиндре тщательно перемешивают стеклянной лопаточкой до получения равномерной гомогенной массы; остающиеся комочки извлекают лопаточкой; к одному объему этой жидкости прибавляют 3 объема физиологического раствора; смесь тщательно взбалтывают и сохраняют в прохладном и темном месте; 4) химически чистый хлористый натрий; 5) раствор иода № 1 (0,6% водный раствор иода в 3% растворе иодистого калия); в литровую колбу вводят 40 см<sup>3</sup> воды и 30 г иодистого калия, смешивают и вводят туда же 6 г возогнанного иода; взбалтывают до полного растворения иода и доводят водой объем до метки (получается раствор иода около п/22); 6) раствор иода № 2; в литровую колбу вводят 40 см<sup>3</sup> воды, 30 г иодистого калия и 2,5 г возогнанного иода; взбалтывают до растворения и доводят объем до 1 л (получается около п/50); 7) 10% водный раствор  $\text{CuSO}_4$  или 7%  $\text{CuCl}_2$ ; 8) 8% раствор двууглекислого натрия; 9) насыщенный на холоду водный раствор сульфита натрия ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) или калия (около 2,5п); готовят насыщенный раствор  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  и оставляют его на сутки; титруют п/10 раствором иода (должен быть около 2,5п); 10) стандартный раствор сулемы № 1 с содержанием 0,1 мг Hg в 1 см<sup>3</sup>; в колбочке на 200 см<sup>3</sup> растворяют 0,027 г сулемы в небольшом объеме иодистого раствора № 2 (п/50) и доводят объем тем же раствором до метки; 11) стандартный раствор сулемы № 2 с содержанием 0,01 мг Hg в 1 см<sup>3</sup>; в колбочку на 100 см<sup>3</sup> вводят 10 см<sup>3</sup> стандартного раствора № 1 и доводят объем до метки раствором иода № 2 (п/50); вместо сулемы для приготовления стандартного раствора можно взять азотнокислую ртуть или двуиодистую, вычислив навеску; 12) реактивный раствор (готовят свежий для каждой серии анализов); к одному объему сернокислой меди (7) в колбочке приливают двойной объем сульфита (9); взбалтывают до получения прозрачного раствора; затем прибавляют полуторный (по отношению к  $\text{CuSO}_4$ ) объем соды (8); смесь взбалтывают и выливают в бюретку.

I. Осаждение ртути. Суточное количество мочи взбалтывают, отбирают в химический стакан 400 см<sup>3</sup> для анализа. Подкисляют 5% уксусной кислотой (1) до кислой реакции (по лакмусу), прибавляют 1 г хлористого натрия (4) и 5 см<sup>3</sup> раствора белка (3). Ставят в кипящую водяную баню на 20—30 минут так, чтобы стакан был погружен в воду, часто помешивая стеклянной лопаточкой. Когда белок свернется, образуя хлопья, стакан снимают с бани.

II. Фильтрация и извлечение ртути из осадка. Когда образуются хлопья белка, мочу фильтруют (лучше теплой) через воронку Бюхнера, присоединяя ее к водоструйному насосу или к аспиратору. В воронку кладут два фильтра: один вырезают точно по воронке, а второй, верхний, вырезают чуть больше и закладывают его складками по стенке воронки. Нужно тщательно снять налет со стенок стакана и перенести его на фильтр. Осадок на фильтре тщательно промывают водой 2—3 раза. Затем фильтр осторожно переносят в широкий стаканчик так, чтобы осадок был наверху, и заливают его 20 см<sup>3</sup> раствора иода № 1. Осадок и фильтр тщательно перемешивают с иодом и через 15 минут фильтруют через обыкновенный фильтр. В фильтрате определяют ион ртути по микрометоду Полежаева.

III. Определение иона ртути по микрометоду Полежаева. Принцип метода основан на том, что при взаимодействии двуиодистой ртути с медью образуется иодистый ртутно-медный комплекс



кирпичнооранжевого цвета, который на молочнобелом фоне двуиодистой меди сообщает смеси желто-оранжевое окрашивание, пропорциональное количеству ртути. В ряд колориметрических пробирок наливают от 0,2 до 0,9 см<sup>3</sup> стандартного раствора сулемы № 2 (11) с интервалом в 0,1 см<sup>3</sup>, что соответствует содержанию ртути в 0,002—0,003 мг и т. д. Во всех пробирках объем доводится до 5 см<sup>3</sup> раствором иода № 2 п/50 (6). В одну пробирку, нулевую, вносят только раствор иода без ртути. В такие же пробирки берут по 5 см<sup>3</sup> из каждой анализируемой пробы. Затем во все пробирки шкалы и проб наливают из бюретки по 3 см<sup>3</sup> реактивного раствора (12).

Пробирки тщательно встряхивают и через 1—2 минуты пробы сравнивают со шкалой по интенсивности оранжево-желтой окраски. Добавление реактива всегда начинают с нулевой пробирки, встряхивают ее и смотрят, не получится ли в ней положительная реакция на ртуть. Таким образом проверяется чистота реактивов и посуды. Если жидкость в нулевой пробирке получается молочнобелого цвета, то можно продолжать анализ. Если концентрация ртути большая и окраска пробы интенсивнее окраски последней пробирки шкалы, то берут для анализа 1 см<sup>3</sup> пробы и доводят объем до 5 см<sup>3</sup> раствором иода № 2 п/50 (6) или получают шкалу из стандартного раствора № 1 (10), начиная от 0,1, т. е. с содержанием 0,01—0,02 мг ртути и т. д.

Расчет анализа. Если для анализа взято 400 см<sup>3</sup> мочи, то количество ртути в 1 л равно:

$$x = \frac{A \cdot 20 \cdot 1000}{V \cdot 400},$$

где  $A$  — концентрация ртути в той пробирке шкалы, которой соответствует проба,  $V$  — количество кубических сантиметров, взятое для анализа, 20 — объем, в котором была извлечена ртуть из белкового осадка. Если  $V = 5$  см<sup>3</sup>, то  $x = A \cdot 10$ .

2) **Определение свинца.** Свинец в моче может находиться в виде как неорганических, так и сложных органических соединений. Для определения органических соединений свинца требуется предварительное разрушение мочи, чтобы выделить ион свинца из сложной органической молекулы. Это сложная операция, и поэтому дается определение неорганических соединений свинца в моче и отдельное определение всего свинца в моче, т. е. суммы органических и неорганических соединений.

В обоих случаях свинец определяется по реакции с хромовокислым калием с образованием осадка хромата свинца, количество которого определяется нефелометрически по степени помутнения:



Реактивы: 1) аммиак концентрированный 25—28%; 2) водный раствор аммиака 1:20; 3) серная кислота концентрированная; 4) серная кислота 5%; 5) спирт этиловый; 6) водный раствор спирта 30%; 7) пергидрол; 8) уксуснокислый аммоний — 40% раствор; 9) уксуснокислый натрий — 30% раствор; 10) 10% водный раствор хромовокислого калия ( $\text{K}_2\text{CrO}_4$ ); 11) стандартный водный раствор свинца с содержанием 0,1 мг свинца в 1 см<sup>3</sup> раствора [0,1599 г  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  растворяют в 1 л воды].

Все реактивы должны быть проверены на ион свинца, для чего проводится слепой опыт, т. е. вместо мочи берут дистиллированную воду и проводят анализ, как описано ниже.



а) Определение неорганических соединений свинца. Из суточного количества мочи отбирают для анализа 500 см<sup>3</sup> в стакан или колбу, прибавляют 70 см<sup>3</sup> концентрированного аммиака (1), перемешивают и оставляют на ночь. Свинец выпадает в осадок вместе с фосфатами. На следующий день декантируют прозрачный слой мочи над осадком, для чего пипетку соединяют с водоструйным насосом и через нее осторожно отсасывают (не взмучивая осадка) примерно  $\frac{2}{3}$  мочи. Осадок фильтруют через воронку Бюхнера, закладывая в нее два фильтра: один точно по воронке, а второй, побольше, закладывается складками; затем промывают два раза аммиачной водой (2) и один раз спиртом. Фильтр высушивают при температуре 50—60°, снимают осадок, а фильтр сжигают спичкой, держа его над чашечкой, так чтобы обугленный фильтр попал в чашечку.

Осадок в чашечке обрабатывают 7 см<sup>3</sup> 5% серной кислоты, тщательно перемешивая его стеклянной лопаточкой, и оставляют на 20 минут, после чего прибавляют 1,5 см<sup>3</sup> спирта для лучшего осаждения полученного сернокислого свинца. Через 30 минут фильтруют и промывают осадок 30% спиртом (6) до исчезновения реакции на серную кислоту (к 5 см<sup>3</sup> фильтрата прибавляют 1 см<sup>3</sup> 10% HCl и 1 см<sup>3</sup> BaCl<sub>2</sub>; при этом не должно получаться мути). Вместо отмывания серной кислоты спиртом можно осадок сначала промыть 10% раствором аммиака до щелочной реакции (на лакмус), а затем уже аммиак отмыть 30% спиртом до нейтральной реакции; после этого фильтр опять подсушивают при температуре 50—60°, снимают осадок с фильтра в чашечку или стаканчик, сжигают спичкой фильтр над чашечкой и обрабатывают весь осадок в чашечке с 10 см<sup>3</sup> уксуснокислого аммония (8), тщательно перемешивая для лучшего растворения сернокислого свинца. Через 20 минут фильтруют через обыкновенный фильтр и в фильтрате определяют уксуснокислый свинец по реакции с хромом.

Ход определения. В ряд колориметрических пробирок (одного диаметра) наливают 0,1—0,9 см<sup>3</sup> стандартного раствора свинца (11) с интервалом в 0,1 см<sup>3</sup>, что соответствует содержанию свинца 0,01—0,09 мг. Во все пробирки добавляют 40% раствор уксуснокислого аммония до 5 см<sup>3</sup>. В одну пробирку, нулевую, наливают только 5 см<sup>3</sup> уксуснокислого аммония без свинца. В такую же пробирку наливают 5 см<sup>3</sup> исследуемой пробы. Затем во все пробирки шкалы и пробы наливают по 3 капли 30% уксуснокислого натрия (9) и по 0,5 см<sup>3</sup> 10% хромата калия, взбалтывают каждую пробирку отдельно. Через 10—15 минут выпадает осадок хромата свинца, который вызывает помутнение жидкости в пробирках. Степень помутнения пропорциональна количеству хроматокислого свинца. Сравнивая исследуемые пробы с пробирками шкалы, находят ту пробирку, которая по мутности совпадает с исследуемой пробой. Это значит, что в 5 см<sup>3</sup> пробы содержится столько же свинца, сколько в данной пробирке шкалы. Отсюда вычисляют количество свинца в 1 л мочи по формуле (если для анализа взято 500 см<sup>3</sup> мочи):

$$x = \frac{a \cdot V \cdot 1000}{5,0 \cdot 500},$$

где  $a$  — количество свинца в той пробирке, которой соответствует проба, 5 см<sup>3</sup> — взято для анализа,  $V$  — объем, в котором растворен весь свинец.

б) Определение общего количества свинца. Моча сжигается серной кислотой с пергидролом, и полученный сернокислый свинец определяется, как и неорганический свинец.

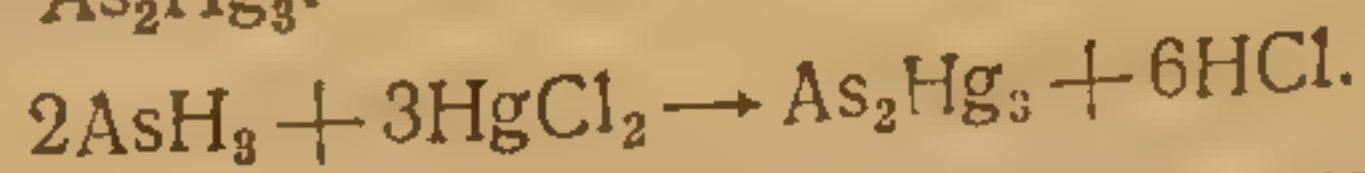


**Ход определения.** Из суточного количества мочи отбирают 500 см<sup>3</sup>, добавляют 5 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты и выпаривают мочу на водяной бане до  $\frac{1}{5}$  первоначального объема. Затем мочу переводят в фарфоровую чашку и выпаривают почти досуха. Осадок в чашке обрабатывают 10—15 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты и переводят в колбу Кьельдаля; при этом нужно перевести осадок полностью, так, чтобы чашка осталась совершенно чистой. Окончательно чашку смывают 5 см<sup>3</sup> пергидрола и переносят их в колбу. Ставят колбу на сетку и начинают осторожно подогревать, следя за тем, чтобы пена не поднималась высоко в горло колбы и не вышла из колбы. Продолжают нагревание, прибавляя постепенно по 0,5—1 см<sup>3</sup> пергидрола, до тех пор, пока жидкость в колбе совершенно посветлеет и не будет темнеть при дальнейшем нагревании. Сжигание продолжается около 2 часов.

В некоторых случаях в начале сжигания всплывает тонкая черная пленка, которая не разрушается пергидролом и остается черной, когда вся жидкость уже посветлела. В этом случае ждут, пока светлая жидкость в колбе выкипит и останется только серная кислота, прибавляют 1 см<sup>3</sup> азотной кислоты и, если пленка не обесцветится, постепенно прибавляют еще азотной кислоты по 5 капель до полного посветления пленки. Затем нужно освободиться от остатка азотной кислоты, для чего дают колбе остыть, прибавляют 1—2 см<sup>3</sup> воды и продолжают кипячение до полного удаления азотной кислоты. Приходится несколько раз прибавлять воду и продолжать кипячение. Полнота удаления азотной кислоты проверяется по реакции с дифениламином: на чашечку стеклянной лопаточкой наносится щепотка дифениламина, на которую наносят каплю жидкости из колбы. В присутствии следов азотной кислоты получается слабо синее окрашивание. Если синего окрашивания не образуется, то пробе дают остыть. Затем прибавляют равный объем воды и 20 см<sup>3</sup> спирта, через 30 минут фильтруют через обыкновенный фильтр. На фильтре остается сернокислый свинец; его промывают 30% спиртом и в остальном поступают так же, как при определении неорганических соединений свинца.

В том случае, когда пленки не образовалось и сжигание было закончено без азотной кислоты, продолжают кипячение еще 20 минут для разрушения H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и затем дают колбе остыть, прибавляют воду и спирт, фильтруют и т. д.

**3) Определение мышьяка.** Принцип определения мышьяка в моче основан на том, что все соли трехвалентного, а также пентавалентного мышьяка восстанавливаются при действии водорода *in statu nascendi* до мышьяковистого водорода. Мышьяковистый водород, проходя через бумажку, пропитанную сулемой, окрашивает ее в желтобурый цвет, вследствие образования As<sub>2</sub>Hg<sub>3</sub>:



Интенсивность окраски пропорциональна количеству мышьяковистого водорода. Такую же реакцию дает и фосфористый водород. Но только соли трехвалентного фосфора восстанавливаются до фосфористого водорода, а соли пентавалентного фосфора не восстанавливаются. Фосфор в моче находится в виде пентавалентного, вследствие чего нормальная моча при действии водорода не дает реакции с сулемой.

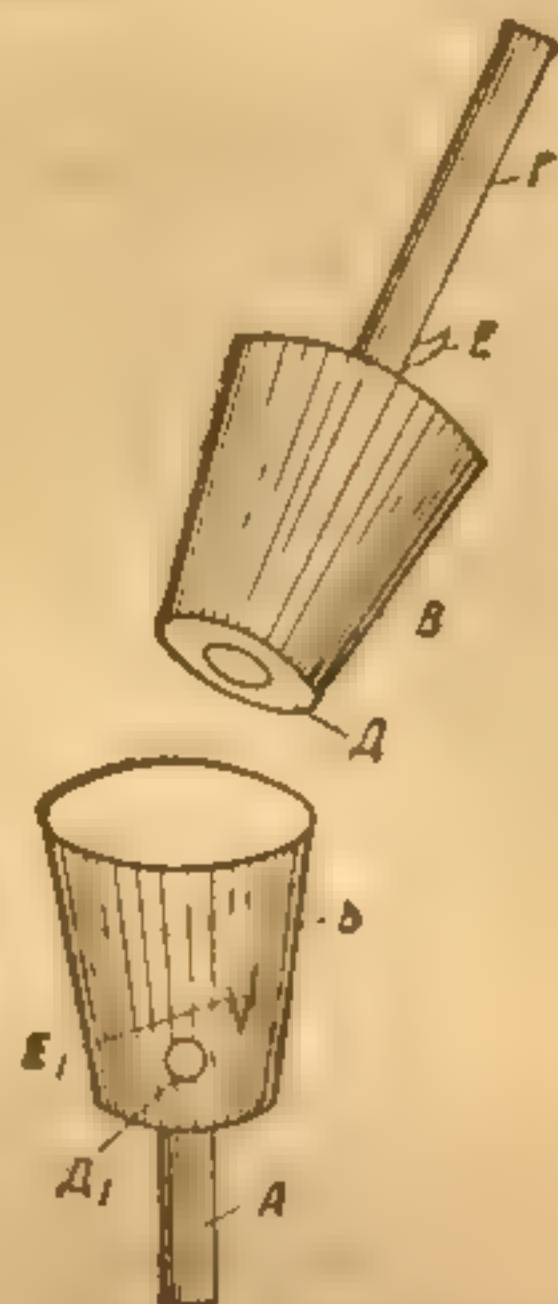


Рис. 118. Реактивная трубка Бальской.



Аппаратура: 1) колбы на 500 см<sup>3</sup> с длинным горлом; 2) пробки резиновые, герметично закрывающие колбы; 3) резиновые кольца, нарезанные из резиновой трубки; 4) реактивные трубочки Бальской (рис. 118), состоящие из стеклянной трубочки А, которая заканчивается расширением В. В это расширение в виде пришлифованной пробки входит утолщение В другой трубки Г. Отверстия Д и Д<sub>1</sub> обеих трубок должны быть одинакового диаметра (3—5 мм) и точно совпадать одно с другим при закрытом состоянии обеих трубок. Для лучшего прилегания трубок их закрепляют резиновыми кольцами, надетыми на крючки Е и Е<sub>1</sub>. Нижняя часть трубки А должна быть не меньше 10 см. Трубочка А вставляется в резиновую пробку.

Реактивы: 1) серная кислота (концентрированная); 2) серная кислота 10% (по объему); 3) 15% водный раствор иодистого калия; 4) стандартный раствор мышьяка с содержанием 0,01 мг As в 1 см<sup>3</sup>; навеску 0,0522 г Na<sub>2</sub>AsO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O растворяют в мерной колбочке в 100 см<sup>3</sup> воды; получается раствор с содержанием 0,1 мг/см<sup>3</sup> As; отсюда берут 10 см<sup>3</sup> и разводят водой до 100 см<sup>3</sup> (в мерной колбочке); получают раствор с содержанием 0,01 мг/см<sup>3</sup> As; 5) цинк гранулированный (без мышьяка); 6) 0,05% раствор сернокислой меди; перед употреблением цинк куприруют; погружают его в 0,05% раствор CuSO<sub>4</sub> на 2—3 минуты; хорошо промывают водой и сушат фильтровальной бумагой; 7) пергидрол; 8) азотная кислота концентрированная; 9) свинцовая вата; гигроскопическую вату погружают в 5% водный раствор уксуснокислого свинца, отжимают и высушивают в сушильном шкафу; 10) сулемовые бумажки; фильтровальную бумагу пропитывают 5% раствором сулемы; сулему растворяют в небольшом количестве спирта, а затем добавляют воду; бумажки сушат в темном месте на воздухе и нарезают маленькими кружочками, размер которых соответствует внутреннему отверстию Д верхней части реактивной трубки А.

Все реактивы должны быть тщательно проверены на содержание мышьяка. Для этого, прежде чем пользоваться данными реактивами для анализа, проверяют их на слепом опыте. Серная кислота разводится водой 1:10; отсюда берут в колбу 100 см<sup>3</sup>, добавляют 2—3 г цинка (проверенного), закрывают колбу реактивной трубочкой и производят определение на мышьяк, как описано ниже.

Для проверки цинка ставят слепой опыт с серной кислотой, произведенной на мышьяк. Для проверки азотной кислоты и пергидрола производят сжигание, как и при анализе. Кроме того, при анализе ставится контрольный опыт, который не должен давать положительной реакции на мышьяк.

а) Ориентировочное качественное определение мышьяка в моче. Реактивную трубочку вставляют в резиновую пробку, которая должна плотно входить в горло колбы на 500 см<sup>3</sup>. Нижний конец реактивной трубки до расширения заполняют (неплотно) свинцовой ватой для поглощения сероводорода, который выделяется во время реакции. В расширение трубки кладут круглую сулемовую бумажку так, чтобы она закрывала внутреннее отверстие трубки, и закрывают верхней пришлифованной частью трубки. Закрепляют плотно обе части трубки резиновыми колечками. Затем из суточного количества мочи отбирают в колбу 200 см<sup>3</sup>, приливают 20 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты, погружают в колбу 5 г купрированного цинка, быстро закрывают колбу резиновой пробкой с реактивной трубочкой и оставляют на 4—5 часов или на ночь. Когда реакция закончена (прекращается выделение пузырьков газа), открывают пробку реактивной



трубки, вынимают пинцетом сулемовую бумажку и погружают ее в 15% раствор иодистого калия. Бумажка сначала вся порозовеет, затем розовая окраска исчезнет; тогда ее вынимают из иодистого калия и высушивают между листами фильтровальной бумаги. При наличии мышьяка в моче на сулемовой бумажке получается желтобурое пятно  $As_2Hg_3$ .

Для контроля ставят такой же опыт с мочой, заведомо не содержащей мышьяка. Свинцовая вата должна потемнеть только на небольшом отрезке. Если же свинцовая вата потемнела доверху, то возможно, что сероводород прошел до сулемовой бумажки, прореагировал с ней и дал бурое пятно. Если нет реактивных трубок, то можно вставить обыкновенную стеклянную трубочку. Снизу также заполняют ее свинцовой ватой, а сверху вставляют узкую сулемовую бумажку.

В остальном поступают, как описано выше. Реакция в данном случае получится не в виде круглого пятна, а окрасится только нижний конец бумажки.

б) Количественное определение мышьяка в моче. Так как мышьяк в моче может находиться в виде неорганических, а также органических соединений, то для полного определения мышьяка в моче требуется ее предварительная минерализация. Минерализация мочи производится так же, как и при определении свинца в моче.

По окончании минерализации измеряют приблизительно объем серной кислоты, оставшейся в колбе Кьельдаля, переводят ее в колбу на 500 см<sup>3</sup>, добавляют на каждые 10 см<sup>3</sup> кислоты 90 см<sup>3</sup> воды, тщательно промывая колбу Кьельдаля. Получается исследуемая проба в 18—20% серной кислоте (по весу), затем составляют стандартную шкалу, для чего в ряд колб наливают столько же серной кислоты и такой же концентрации, как в минерализованной пробе. Вводят стандартный раствор мышьяка от 0,2 до 0,8 см<sup>3</sup> с интервалом в 0,1 см<sup>3</sup>; получается содержание мышьяка от 0,002 до 0,008 мг. В одну колбу, нулевую, мышьяк не вводится. Затем во все колбы шкалы и пробы вводят по 5 г купрированного цинка и быстро закрывают их резиновыми пробками с реактивными трубками, заранее заготовленными и смонтированными, как описано при качественном определении мышьяка. Весь прибор должен быть герметичен. Внутренние отверстия всех реактивных трубок должны быть одинакового размера, чтобы получились одинаковые пятнышки. Через 4—5 часов, когда уже не видно выделения пузырьков газа, вынимают бумажки стандартной шкалы, фиксируют их в растворе иодистого калия, сушат, кладут на заранее заготовленный лист белой бумаги, на котором написаны введенные количества стандартного раствора. Получается ряд бумажек с окрашенными пятнышками от слабожелтого до темнобурого цвета, в зависимости от количества мышьяка. Смотрят, к какой бумажке подходит исследуемая проба, т. е. определяют, сколько миллиграммов мышьяка находится в 200 см<sup>3</sup> мочи. Умножив полученное число на 5, получают содержание мышьяка в 1 л мочи.

4) Определение фенола. а) Определение посредством диазореакции. Реактивы: 1) диазореактив: а) основной раствор паранитроанилина: 1,5 г вещества отвешивают в мерную колбу емкостью в 1 л, прибавляют 80 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты и доводят водой до метки; б) 10% раствор азотистокислого натрия; в) рабочий диазореактив: 25 см<sup>3</sup> основного раствора паранитроанилина охлаждают до 0°, одновременно охлаждают раствор азотистокислого натрия, для чего отмеривают в пробирку около 2 см<sup>3</sup>; приливают последний раствор по каплям к пер-



воту, пока иоднокрахмальная бумажка не укажет, что диазотирование закончено; свежеприготовленный диазореактив совершенно бесцветен и прозрачен; 2) стандартный раствор фенола: так как кристаллическая карболовая кислота чрезвычайно гигроскопична, то раствор необходимо стандартизировать титрованием. Основной раствор должен содержать 1 мг фенола в 1 см<sup>3</sup>. Для этого приходится отвешивать обычно не 1 г, а 1,4—1,5 г карболовой кислоты на 1 л раствора. Отвешивают требуемое количество и растворяют в соответствующем количестве п/10 соляной кислоты. Отмеривают 25 см<sup>3</sup> раствора в эрленмейеровскую колбу емкостью 250 см<sup>3</sup>; прибавляют 50 см<sup>3</sup> п/10 раствора едкого натра, нагревают до 65°; добавляют 25 см<sup>3</sup> п/10 раствора иода; закрывают колбу пробкой и оставляют стоять 30—40 минут при комнатной температуре. Прибавляют 5 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты и оттитровывают избыток иода п/10 раствором гипосульфита натрия; 1 см<sup>3</sup> раствора иода соответствует 1,567 мг фенола. На основании результата титрования готовят раствор так, чтобы он содержал 1 мг фенола в 1 см<sup>3</sup>, или же вычисляют фактор. Из основного раствора фенола не реже 1 раза в 6—7 дней готовят рабочий раствор, разводя его водой в 10 раз. Из этого раствора перед употреблением готовят раствор для колориметрирования: отмеривают 2,5 см<sup>3</sup> в мерную колбу емкостью в 100 см<sup>3</sup> и доводят водой до метки; 10 см<sup>3</sup> этого раствора содержат 0,025 мг фенола. При определении связанных фенолов эта концентрация иногда оказывается слишком слабой; в таком случае, чтобы интенсивность окраски пробы не слишком сильно отличалась от окраски стандарта (см. «Колориметрия»), берут не 2,5 см<sup>3</sup> на 100 см<sup>3</sup>, а готовят серию стандартных растворов, отмеривая последовательно 2,5—3—4—5 см<sup>3</sup> и т. д.; 3) 20% раствор безводного углекислого натрия: вносят отвешенное количество в мерную колбу, наливают воды до перехода в шейку, ставят на ночь в термостат или на несколько часов в теплую воду, повторно взбалтывая, по охлаждении доводят водой до метки; 4) 10% раствор безводного углекислого натрия; 5) 0,25% спиртовой раствор фенолфталеина.

Ход определения. Мочу перед употреблением разводят в 100 или 50 раз; если окраска оказывается слишком слабой, разводят в 10 раз. В разведенной моче определяют отдельно свободные и связанные фенолы.

а) Свободные фенолы. К 10 см<sup>3</sup> разведенной мочи прибавляют 2 см<sup>3</sup> углекислого натрия (3) и 1 см<sup>3</sup> диазореактива (16); почти тотчас появляется красное окрашивание, быстро достигающее максимальной степени, и держится, не изменяясь, около 1 часа. Одновременно обрабатывают таким же образом 10 см<sup>3</sup> стандартного раствора [0,025 или 0,03 мг фенола (3)].

Вычисление — по общим правилам колориметрии.

б) Связанные фенолы. Одновременно обрабатывают 10 см<sup>3</sup> разведенной мочи и 10 см<sup>3</sup> стандартного раствора [содержащего 0,025—0,1 мг фенола (8)]. Прибавляют в обе колбочки по 0,25 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты и ставят в кипящую водяную баню на 15 минут. Охлаждают под водопроводом и нейтрализуют 10% раствором углекислого натрия (4), прибавляя 1 каплю фенолфталеина, до первого появления слабозеленого окрашивания. Дальше, как для свободных фенолов.

Общее количество фенолов вычисляют, складывая обе полученные величины.

В нормальной моче содержится на 1 л свободных фенолов 0,073—0,273 мг, связанных фенолов 0,036—0,128 мг, суммы фенолов 0,113—0,282 мг.

Моча животных содержит значительно большее количество фенолов.



б) **Определение по Фолину.** Принцип. Фенолы восстанавливают фосфорновольфрамовый реактив, содержащий молибдаты, с образованием синего окрашивания, пригодного для колориметрирования. Так как с этим же реактивом реагирует мочева кислота (см. «Определение мочева кислоты»), то ее предварительно удаляют.

Реактивы: 1) реактив Ллойда (препарат неочищенного силиката алюминия); 2) измельченная в порошок щавелева кислота; 3) фосфорновольфрамовый реактив на фенолы: смешивают в колбе емкостью в 1,5 л 750 см<sup>3</sup> воды, 100 г вольфрамовокислого натрия, 20 г фосфорномолибденовой кислоты, 50 см<sup>3</sup> 85% фосфорной кислоты и 100 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты; на колбу помещают воронку, которую неплотно закрывают часовым стеклом; кипятят смесь не слишком сильно в течение 2 часов; получается интенсивно желтый раствор; по охлаждении доводят водой до 1 л; 5 см<sup>3</sup> этого раствора подщелачивают углекислым натрием — не должно произойти посинения; 4) насыщенный раствор углекислого натрия; 5) концентрированная соляная кислота; 6) стандартный раствор фенола: 5 см<sup>3</sup> раствора должны содержать 0,5 мг фенола; приготовление см. предыдущий способ.

Ход определения. В небольшую колбочку отмеривают около 40 см<sup>3</sup> мочи, 4 см<sup>3</sup> реактива Ллойда (1) и 0,3 г щавелевой кислоты (2). Смешивают, встряхивая не сильно, но непрерывно в течение 5 минут; фильтруют. Мочева кислота при этом полностью удаляется.

а) **Свободные фенолы.** Отмеривают 5 см<sup>3</sup> фильтрата в мерную колбу емкостью в 100 см<sup>3</sup>, прибавляют 5 см<sup>3</sup> фосфорновольфрамового реактива (3) и 20 см<sup>3</sup> насыщенного раствора соды (4); доводят до метки водой, смешивают, оставляют стоять 20 минут или дольше; фильтруют. В другую такую же колбу отмеривают 5 см<sup>3</sup> стандартного раствора (6), 5 см<sup>3</sup> фосфорновольфрамового реактива (3), 20 см<sup>3</sup> соды (4) и доводят до метки; спустя 20 минут колориметрируют.

б) **Общее количество фенолов.** Отмеривают в мерную колбу емкостью 100 см<sup>3</sup> 3 см<sup>3</sup> того же фильтрата, прибавляют 10 капель концентрированной соляной кислоты (5) и нагревают в кипящей водяной бане в течение 10—15 минут. Охлаждают, прибавляют 5 см<sup>3</sup> фосфорновольфрамового реактива (3) и 25 см<sup>3</sup> насыщенного раствора соды (4); при этом требуется осторожность, так как, вследствие сильного вспенивания, легко потерять часть жидкости. Доводят до метки, спустя 20 минут фильтруют. Одновременно обрабатывают стандартный раствор: в такую же мерную колбу отмеривают 5 см<sup>3</sup> стандартного раствора (6), 10 капель соляной кислоты (5), 5 см<sup>3</sup> фосфорновольфрамового реактива (3) и 25 см<sup>3</sup> соды (4).

Соляную кислоту можно заменить тем же фосфорновольфрамовым реактивом, который содержит достаточно кислоты: к 3 частям фильтрата прибавляют 1 часть фосфорновольфрамового реактива (3) и ставят в за ранее приготовленную кипящую водяную баню на 5 минут. Охлаждают, приливают 20 частей соды и доводят водой до метки; колориметрировать можно тотчас же. Это видоизменение имеет то преимущество, что не происходит сильного вспенивания; кипячение менее продолжительно (Литвиненко). Стандартом может служить 0,3091% раствор резорцина.

Вычисление по общим правилам колориметрии.

Получающиеся при этом способе для фенолов цифры пригодны для клинических выводов, хотя, несомненно, несколько высоки, так как в них входит и тирозин — свободный и связанный.



## ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ВЕЩЕСТВА

Лекарственные вещества в моче появляются временно, в зависимости от приема того или иного лекарства. Здесь будут приведены только самые простые способы открытия наиболее часто встречающихся в моче лекарств.

1) **Иодистые и бромистые препараты.** Берут половину пробирки мочи, приливают 5—10 капель дымящейся азотной кислоты и 1—2 см<sup>3</sup> хлороформа. Пробирку закрывают и переворачивают несколько раз. Хлороформ в присутствии иода окрашивается в яркорозовый цвет, а в присутствии брома — в желтый.

2) **Салициловые препараты.** К моче прибавляют несколько капель полуторахлористого железа: получается темнофиолетовое окрашивание, не исчезающее при нагревании. Реакция более чувствительна, если выделить салициловую кислоту, притом таким образом, чтобы вещества, мешающие ее реакции с полуторахлористым железом, не перешли в раствор. Мочу подкисляют серной кислотой и взбалтывают в делительной воронке со смесью хлороформа (2 объема) и петролейного эфира (3 объема). Хлороформно-петролейный слой спускают в пробирку, приливают к нему несколько кубических сантиметров воды и 1 каплю полуторахлористого железа или, лучше, железных квасцов: в присутствии даже незначительного количества салициловой кислоты получается красивое фиолетовое окрашивание.

Салол обуславливает темнозеленое, после долгого приема почти черное окрашивание мочи; с полуторахлористым железом он дает окрашивание, характерное для салициловых препаратов.

3) **Антипирин, фенацетин.** Названные вещества с полуторахлористым железом дают коричнево-красное окрашивание, не исчезающее при нагревании.

4) **Пирамидон.** Моча при употреблении пирамидона внутрь принимает окраску от розово-красной (цвета семги) до виннокрасной, причем эта окраска переходит при взбалтывании в хлороформ. Иногда в ней выпадает осадок, состоящий из красных игольчатых кристаллов. Если мочу развести пополам 2% раствором полуторахлористого железа, то она принимает аметистовую окраску.

5) **Препараты хризофановой кислоты.** После приема ревеня, сенны, крушины добавление к моче едкого кали вызывает красное окрашивание; выпадающий при нагревании осадок из фосфатов окрашен в красный цвет; при добавлении уксусной кислоты он растворяется с переходом в желтый цвет.

6) **Сантонин.** Сантонин дает желтое окрашивание, переходящее при прибавлении щелочи в красное, не изменяющееся при нагревании. При прибавлении известкового молока или баритовой воды образуется бесцветный осадок, в то время как жидкость остается красной.

7) **Таннин.** С полуторахлористым железом получается черное окрашивание (чернила).

8) **Фенолы.** Цвет мочи темнозеленый, переходящий в черный, вследствие образования гидроксихинона при окислении кислородом воздуха (см. выше).

9) **Сульфамиды.** Принцип определения основан на свойстве сульфамидов при воздействии на них ацетилированной Н-кислоты (1-нафтилэтилендиаминдигидрохлорид) давать розовое окрашивание. Окраска сравнивается со стандартным раствором того препарата сульфамидной группы, который определяется в опыте.

Реактивы: 1) 10% трихлоруксусная кислота; 2) 0,05% раствор азотистокислого натрия; 3) насыщенный на холоду уксуснокислый натрий;



4) 0,05% раствор Н-кислоты; 5) стандартный раствор основной: растворяют в воде 100 мг (того из препаратов сульфамидной группы, который определяется); доводят водой до метки 500 см<sup>3</sup>. Этот раствор содержит 0,2 мг сульфамида в 1 см<sup>3</sup>. Из этого основного стандартного раствора готовят рабочие стандарты.

Первый рабочий стандарт получают так: берут 5 см<sup>3</sup> основного (5) раствора, прибавляют 20 см<sup>3</sup> 10% трихлоруксусной кислоты и доводят водой до метки 100; 1 см<sup>3</sup> этого раствора содержит 0,01 мг сульфамида. Если окраска в опыте получилась более слабой, то готовят второй рабочий стандарт: берут в 100 см<sup>3</sup> колбу 2,5 см<sup>3</sup> основного стандарта, прибавляют 20 см<sup>3</sup> 10% трихлоруксусной кислоты и доводят до метки 100 (1 см<sup>3</sup> второго рабочего стандарта содержит 0,005 мг сульфамида). Если требуется, можно приготовить и третий рабочий стандарт, беря 1 см<sup>3</sup> основного раствора, 20 см<sup>3</sup> трихлоруксусной кислоты и разводя до 100 см<sup>3</sup>; 1 см<sup>3</sup> третьего раствора содержит 0,002 мг сульфамида.

**Ход определения.** Мочу разводят в 20 раз. В пробирку наливают 2 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, прибавляют микропипеткой 0,2 см<sup>3</sup> разведенной (в 20 раз) мочи, пипетку ополаскивают этой же водой несколько раз, оставляют стоять 5 минут (это особенно необходимо при определении сульфамидов в цельной крови для полного гемолиза). Затем по каплям прибавляют 0,8 см<sup>3</sup> трихлоруксусной кислоты, взбалтывают и через 5 минут прибавляют 1 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, снова взбалтывают, потом фильтруют через бумажный фильтр (маленький). Берут точно 1 см<sup>3</sup> прозрачного фильтрата в пробирку Видаля с диаметром 0,5—0,75 см, длиной 10 см. Приливают 2 капли (0,1 см<sup>3</sup>) азотистокислого натрия, взбалтывают, оставляют стоять 5 минут, затем приливают 6 капель (0,3 мл) насыщенного уксуснокислого натрия и 2 капли (0,1 см<sup>3</sup>) Н-кислоты, взбалтывают; жидкость приобретает розовое окрашивание, и через 2—5 минут колориметрируют (в аппарате Аутенрита или микроколориметре Дюбоска). Можно пользоваться и рядом эталонных пробирок; для приготовления эталонов заготавливают растворы азотнокислого кобальта 1, 5, 3, 6% и т. д., наливают в пробирки того же диаметра, в которых проводят опыт, плотно закупоривают пробками, заливают парафином. Интенсивность окраски проверяют со стандартом.

Для определения сульфамидов в крови пользуются этим же методом; крови берут в опыт 0,2 мл.

**10) Висмут.** Принцип. После сжигания органических веществ и прибавления иодистого калия определяют количество висмута колориметрически.

**Реактивы:** 1) стандартные растворы: стойкие стандартные растворы изготовляют из хромовокислого калия ( $K_2CrO_4 \times 3H_2O$ ) и стандартизируют их по растворам висмута различной концентрации. Препарат окиси висмута ( $Bi_2O_3$ ) должен быть химически чистым; его сушат при 110° до постоянного веса, отвешивают на аналитических весах 0,223 г, растворяют в небольшом количестве азотной кислоты и доводят до 2 л; 1 см<sup>3</sup> этого раствора содержит 0,1 мг висмута.

Растворы хромовокислого калия различной концентрации:

0,5000 г в 1 500 см <sup>3</sup> воды соответствуют 0,20 мг висмута					
0,0750	»	»	490	»	»
0,0780	»	»	1 000	»	»
0,0500	»	»	1 500	»	»
0,0174	»	»	1 000	»	»
0,0077	»	»	1 000	»	»
0,0066	»	»	2 000	»	»
0,0064	»	»	1 000	»	»
				0,100	»
				0,050	»
				0,020	»
				0,010	»
				0,005	»
				0,002	»
				0,001	»



Для проверки этих растворов пользуются градуированными центрифужками большого размера с меткой при 25 см<sup>3</sup>. В таких же пробирках производят и самое определение висмута. В 4 пробирки отмеривают по 10 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и по 5 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты, прибавляют в первую пробирку 2 см<sup>3</sup> раствора висмута, во вторую — 1 см<sup>3</sup>, в третью — 0,5 см<sup>3</sup> и в четвертую — 0,2 см<sup>3</sup>. Содержание висмута составляет, следовательно, 0,2, 0,1, 0,05 и 0,02 мг. Охлаждают, прибавляют в каждую пробирку по 4 см<sup>3</sup> сульфитного раствора (см. ниже — 3), доводят водой до 25 см<sup>3</sup>, приливают по 5 см<sup>3</sup> иодистого калия (см. ниже — 2) и сравнивают в колориметре с изготовленными, как указано выше, растворами хромовокислого калия. Для этого стандартные растворы, содержащие 0,2 и 0,1 мг висмута, устанавливают на 20 мм, раствор, содержащий 0,05 мг висмута, — на 30 мм, а содержащий 0,02 мг — на 50 мм (еще более слабые растворы, если бы они понадобились, можно изготовить без труда; их устанавливают в колориметре Аутенрита на 90 мм); 2) растворяют 3,4 мг химически чистого иодистого калия в 200 см<sup>3</sup> воды; раствор нужно каждый раз готовить свежий; 3) подкисленный раствор сернистоокислого натрия (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>): 1 г растворяют в 150 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, прибавляют 0,8 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты и доводят водой до 200 см<sup>3</sup>; раствор тоже готовят каждый раз перед употреблением; 4) пергидрол (30% перекись водорода); 5) концентрированная серная кислота; 6) концентрированная азотная кислота; 7) каприловый спирт.

Ход определения. Обычно отмеривают из суточной мочи 50 см<sup>3</sup>; если предполагается очень большая или, наоборот, очень малая концентрация висмута, то соответственно берут больше или меньше этого количества. Мочу помещают в кьельдалевскую колбу, прибавляют 1—2 капли каприлового спирта, 5 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты, 10 см<sup>3</sup> концентрированной азотной кислоты и 5 см<sup>3</sup> пергидрола и сжигают на электрической плитке в вытяжном шкафу или же приняв меры для удаления образующихся паров (см. «Определение азота в крови»). Сжигание продолжают до исчезновения паров азотной кислоты и обугливания органических веществ; азотную кислоту (около 5 см<sup>3</sup>) и пергидрол приходится добавлять несколько раз, причем колбе дают слегка остыть, чтобы прибавление не вызывало разбрызгивания.

Следы окислов азота удаляют нагреванием с 2—3 см<sup>3</sup> пергидрола до появления белых паров серного ангидрида. После сжигания должно остаться около 4 см<sup>3</sup> прозрачной и бесцветной жидкости; если осталось больше, то избыток выпаривают, если меньше — добавляют серной кислоты. Переносят эту жидкость в градуированную центрифужку, несколько раз ополаскивая колбу водой; общее количество жидкости в пробирке должно быть около 20 см<sup>3</sup>. Дают остыть, прибавляют 4 см<sup>3</sup> сернокислого натрия (3) и доводят водой до 25 см<sup>3</sup>. Прибавляют 5 см<sup>3</sup> иодистого калия (2), центрифугируют. Прозрачную жидкость тотчас колориметрируют.

Вычисление — по общим правилам колориметрии.

11) Хинин. Реактив. Растворяют 1,36 г хлорной ртути (сулема, HgCl<sub>2</sub>) приблизительно в 25 см<sup>3</sup> воды. В таком же количестве воды растворяют 3,32 г иодистого калия (KJ). Приливают первый раствор ко второму, все время помешивая; прибавляют медленно, не прекращая помешивания, 20 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты и доливают водой до 100 см<sup>3</sup>; хранят в бутылке из темного стекла в холодильнике.

Ход определения. Мочу фильтруют, фильтрат испытывают на белок. Если белок имеется, его удаляют кипячением с уксусной кислотой (см. «Удаление белка»). Отмеривают 2—3 см<sup>3</sup> фильтрата, освобожден-



ного от белка, в пробирку и прибавляют 0,5 см<sup>3</sup> реактива. В присутствии хинина появляется муть.

Реакция неспецифична для хинина: ее дают также атропин, стрихнин и другие алкалоиды.

Хинин появляется в моче обычно уже через полчаса после введения; концентрация его достигает максимума через 4—5 часов. Выделение продолжается, в зависимости от дозы, 24—48 часов, хотя наибольшая часть его выделяется уже в течение 3—12 часов.

## ГЛАВА ВТОРАЯ МОЧЕВЫЕ ОСАДКИ

### СПОСОБЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ МОЧЕВЫХ ОСАДКОВ

Нормальная свежесвыпущенная моча обычно совершенно прозрачна, лишь при стоянии в ней появляется незначительная муть в виде облачка (pubescula), которое под микроскопом состоит из различных солей (чаще всего из мочекислых соединений), одиночных белых кровяных шариков и эпителиальных клеток мочевыводящих путей. У здоровых людей часто выпадает осадок в насыщенных утренних порциях мочи или после усиленного потения. При сильном охлаждении мочи нередко выпадает обильный осадок мочекислых солей. При патологических состояниях или сразу выделяется мутная моча, или же после некоторого стояния образуется осадок, который и подлежит подробному микроскопическому исследованию. Момент выпадения осадка представляет большой интерес: если появление муты или выпадение осадка происходит постепенно в первоначально прозрачной моче, то выпадают вещества, находившиеся в моче в растворенном состоянии; выпадение происходит вследствие изменения температуры или реакции мочи. Моча же, которая выделяется уже мутной, содержит, кроме растворенных, также и нерастворимые вещества (гнои, кровь, эпителий, бактерии и т. п.), которые могут стать причиной образования камня.

Прежде чем приступить к исследованию мочевого осадка, нужно обратить внимание на способ его получения. При небрежности, нечистоте сосуда можно и в здоровой моче получить значительный осадок, который не может иметь никакого диагностического значения, а в некоторых случаях может даже затемнить результат исследования; поэтому нужно всегда собирать мочу в тщательно вымытую посуду, а если предстоит бактериологическое исследование мочи, то в стерильный сосуд. В теплое время года, если исследование мочи производится не тотчас же после сбора, необходимо прибавлять к моче химически индифферентные противогнилостные вещества, например, хлороформ, тимол, камфору в горошке и др., чтобы предохранить ее от брожения, которое обыкновенно ведет во всякой моче к образованию обильного осадка. Можно прибавить к моче хлороформную воду (5,0—7,5 хлороформа на 1 л воды) в количестве 20—30 см<sup>3</sup> на 1 л мочи; вода эта не изменяет морфологических элементов мочи и в то же время надолго сохраняет ее в свежем виде. Однако прибавление хлороформа или хлороформной воды, а также сулемы или карболовой кислоты мешает при исследовании химического состава, и поэтому если в дальнейшем предполагается также и химическое изучение, то лучше прибавлять в мочу кристаллик тимола (раствор тимола также



не годится). Хорошо к моче прибавлять  $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{3}$  объема насыщенного раствора буры (1:17). Бура действует антисептично, не осаждает белка и растворяет осадок мочекислых солей или предупреждает образование его.

Кроме чистоты посуды, нужно обращать внимание также на чистоту мочеполовых органов. Необходимо обмывать последние, особенно у женщин в период до и после менструации или если имеются бели; в некоторых случаях у женщин даже приходится прибегать к выпусканию мочи катетером, так как при обычном мочеиспускании получают ненормальные составные части, вследствие патологического состояния не мочевых органов, а соседних—половых.

Самые осадки изучаются следующим образом. Доставленную в бутылки мочу лучше после тщательного взбалтывания вылить в конический бокал; если моча доставлена в темной бутылки с неровным дном, то невозможно тщательно собрать весь осадок под контролем зрения. В коническом бокале моча должна оставаться по возможности 1—2 часа, после чего осевший на дне осадок при помощи пипетки, под контролем зрения, тщательно собирая его со всего дна, переносят в коническую пробирку для центрифуги и центрифугируют, пока содержимое пробирки не разделится на более или менее ясно отграниченный осадок и прозрачную жидкость. Жидкость сливают быстрым наклоном пробирки, стараясь не взболтать осадка. Осадок набирают в пипетку с тонко оттянутым концом: если отверстие пипетки чересчур широко, то будут получаться слишком большие капли. Для взятия осадка верхний конец пипетки закрывают пальцем. Если осадок явно состоит из различных слоев, то в пипетку набирают для последующего изучения каждый слой отдельно. Не следует брать слишком большую каплю, потому что она расплывается и колеблется, что значительно затемняет картину; кроме того, моча смачивает линзу и установить фокус невозможно. Если на предметное стекло попадает слишком большая капля, то следует, прежде чем приступить к исследованию, отобрать избыток мочи с помощью пропускной бумаги; но и при этом утериваются некоторые форменные элементы. Поэтому лучше взять другую каплю.

К собиранию осадка из сосуда и к перенесению капли из центрифужной пробирки на предметное стекло нужно относиться как к моментам, определяющим точность результата микроскопического исследования, помня при этом, что первый собранный осадок и первая капля центрифугата представляют собой материал, который в случае утери из данной порции мочи повторить невозможно.

Рекомендуется проделывать все описанные действия вплоть до изучения под микроскопом, даже если невооруженным глазом не видно никакого осадка ни на дне пробирки, ни в кончике пипетки; таким путем нередко удается обнаружить нити или хлопья слизи, покрытые лейкоцитами.

Для исследования мочевых осадков требуется увеличение сначала для общего ознакомления в 100—200 раз; затем для более подробного изучения—в 300—500 раз. Осветитель опускают, слегка суживают диафрагму.

В некоторых случаях, например, с целью определения характера неорганизованного осадка, приходится производить химические реакции под микроскопом, для чего прибавляют одну каплю жидкого реактива и для более легкого проникновения последнего производят в то же время присасывающее действие пропускной бумагой с противоположной стороны капли. Тогда под микроскопом можно наблюдать или растворение осадка,



или образование новых кристаллов, или, наконец, осадок остается без всяких изменений. Если же в пробирке еще осталась часть осадка, то лучше положить каплю его на другое предметное стекло, прибавить каплю соответствующего реактива, осторожно смешать и наблюдать результат сначала простым глазом, а затем под микроскопом. Лечащие врачи постоянно требуют точных данных о количестве форменных элементов в моче. Выразить ответ в цифрах, однако, нелегко. Если неопределенное количество мочи стоит в сосудах различной формы неодинаково продолжительное время, то количество осадка зависит, кроме трех названных факторов, также от вязкости мочи, количества слизи и др. Если затем со дна сосуда взято некоторое количество мочи, перенесено в центрифужную пробирку и подвергнуто центрифугированию, то количество осадка зависит еще и от того, насколько удачно был собран осадок, как быстро и как долго моча центрифугировалась. Лишь очень немногие из перечисленных факторов, а перечислены только некоторые, можно сколько-нибудь стандартизировать; поэтому ответ по существу не может быть точен, и выражать его в цифрах означает симулировать точность, которой на самом деле нет. Такая ложная точность хуже всякой неточности, всякого откровенно приблизительного определения: много, мало, единичные, несколько десятков. Чтобы сделать подсчет сколько-нибудь точным, необходимо принять ряд специальных мер.

Предложен был следующий способ подсчета форменных элементов осадка. Прежде всего желательно до некоторой степени регулировать количество выпитого, потому что таким путем можно получить мочу с более однообразными свойствами в отношении кислотности, концентрации и т. п. Это в свою очередь имеет значение хотя бы для правильного суждения о количестве гиалиновых цилиндров, которые очень быстро растворяются в щелочной и мало концентрированной моче и значительно дольше сохраняются в кислой моче высокого удельного веса. Поскольку, однако, подсчеты такого рода, если они представляют интерес, производятся повторно, то предписывать больным слишком строгие правила нельзя. Обычно ограничиваются тем, что просят больного не пить слишком много в течение дня и совсем не пить в течение ночи; при этих условиях моча обычно имеет удельный вес 1 020—1 025 при pH — 5,5. Больному дают широкогорлую склянку емкостью в 1 л с хорошо пригнанной резиновой пробкой. Мочу предохраняют от загнивания прибавлением нескольких капель трикрезола. Перед отходом ко сну больной должен опорожнить пузырь и отметить час, а ночью и утром он собирает мочу в бутылку и отмечает час последнего мочеиспускания; таким образом, известно, какому периоду соответствует моча. Смешивают мочу повторным переворачиванием бутылки, измеряют количество. Переносят в градуированную пробирку 1%<sup>0</sup> присланного количества мочи, т. е. если было прислано 440 см<sup>3</sup>, то отмеривают в центрифужку 4,4 см<sup>3</sup> мочи. Если моча содержит много уратов, их растворяют нагреванием, фосфаты растворяют прибавлением уксусной кислоты. Центрифугируют при 1 800 оборотах (не более) в течение 6—10 минут до полного осаждения форменных элементов. Отсасывают жидкость, оставляя некоторое количество ее для последующего разбалтывания осадка (0,5). Тщательно взбалтывают осадок; переносят капиллярной пипеткой каплю в камеру для счета крози и подсчитывают всю сетку или несколько квадратов, в зависимости от количества форменных элементов: если таковых очень много, то достаточно сосчитать, например, в сетке Тюрка одну из 9 больших площадей; в среднем сосчитывают 150—300 клеток. Цилиндры, в особенности если их мало, рекомендуется считать в камере Фукс-Розенталя, высота которой



не 0,1, а 0,2 мм. Счету подлежат цилиндры всех видов, эритроциты и клетки почечного эпителия, а также лейкоциты. Эпителиальные клетки из мочевыводящих путей не считают совсем.

Вычисление. При вычислении принимают во внимание, кроме результата подсчета, также объем присланной для исследования мочи, промежуток времени, которому она соответствует, количество мочи, отмеренное в центрифужку, количество мочи, оставленной в центрифужке для взбалтывания осадка, и объем камеры, в которой были подсчитаны форменные элементы. Сетка Тюрка (стр. 15) состоит из 144 больших квадратов и разделяющих их пространств; кроме того, на ней проведены линии, разделяющие ее на 9 равных квадратных поверхностей. Объем, соответствующий всей сетке, равен 0,9 мм<sup>3</sup>; следовательно, каждой из этих квадратных поверхностей соответствует объем в 0,1 мм<sup>3</sup>. Вычисление производится по формуле:

$$X = \frac{A \times 0,5}{0,0001 \text{ см}^3} \times \frac{O}{o},$$

где  $X$  — количество форменных элементов в 12-часовой порции мочи,  $A$  — количество форменных элементов в объеме, соответствующем одной квадратной поверхности,  $O$  — объем 12-часовой порции,  $o$  — количество, взятое для центрифугирования (обычно  $o = \frac{O}{100}$ ).

Если, например, в 12-часовой порции, содержащей 400 см<sup>3</sup> мочи, было сосчитано в объеме, соответствующем 1 большой квадратной поверхности, 12 эритроцитов, то во всей 12-часовой порции число эритроцитов равно  $\frac{12 \times 0,5 \times 400}{0,0001 \text{ см}^3 \times 4} = 6\,000\,000$ . При всех этих предосторожностях полученные результаты могут разниться между собой на несколько сот тысяч.

Вычисление можно упростить без существенного вреда для диагностического значения полученного результата, если, независимо от объема выделенной мочи, отмеривать в центрифужку 10 см<sup>3</sup> и оставлять в ней при обильном осадке 1 см<sup>3</sup>, при скудном — 0,5 см<sup>3</sup>. Если была сосчитана вся сетка Тюрка, то количество форменных элементов за 12 часов равно:

$$\text{Количество сосчитанных клеток} \times \frac{\text{объем мочи} \times 12}{\text{число часов, которому соответствует моча}} \times \frac{\text{количество мочи, оставленное в пробирке}}{10} \times \frac{1}{0,0009}.$$

Пример. За 8 часов было выпущено 260 см<sup>3</sup> мочи; в центрифужку было отмерено 10 см<sup>3</sup>, оставлено в ней 0,5 см<sup>3</sup>, сосчитано в сетке Тюрка 252 клетки. Отсюда за 12 часов выделено форменных элементов:

$$252 \times \frac{260 \times 12}{8} \times \frac{1}{0,0009} = 5\,460\,000.$$

При счете в камере Фукс-Розенталя изменится только последняя дробь (соответственно объему этой камеры) на  $\frac{0,5}{10} \times \frac{1}{0,0032}$ .

Предел ошибки составляет 7—15%.

Наблюдения показали, что пересчет на 12 часов вполне допустим; только если больной находится на сухоядении (концентрационный опыт), то объем мочи, выделенной за 12 часов, меньше вычисленного.

Можно ли и как можно готовить препараты с осадками мочи впрок? Это очень трудная задача, и пока разрешается она далеко не удовлетворительно, так что почти всегда для демонстраций приходится пользоваться только свежеприготовленными препаратами. При обыкновенных способах фиксации препаратов кристаллические, а отчасти и



организованные осадки быстро изменяют свою форму часто до неузнаваемости. В чаще всего употребляемом при микроскопии канадском бальзаме можно сохранить только осадки из крови, гноя и эпителия; для этого предварительно высушивают распределенный по предметному стеклу осадок на воздухе, затем берут каплю канадского бальзама и покрывают покровным стеклом. Однако кристаллические осадки мочи, а также цилиндры тускнеют от бальзама, делаются мало видимыми или мало прозрачными. Поэтому делались различные попытки заменить канадский бальзам другими специально приготовленными смесями. Из последних лучшие, хотя тоже далеко не удовлетворительные, результаты дает смесь Фриша, состоящая из 1 части желатины, 4 частей глицерина и 2 частей воды. Указанные составные части нагревают на водяной бане до получения однородной густой массы; последняя быстро застывает на воздухе и может сохраняться очень долгое время без всяких изменений. Перед употреблением смесь распускают нагреванием на водяной бане, каплю полутеплой густой жидкости наносят на препарат и быстро покрывают покровным стеклом. Смесь Фриша обладает способностью отнимать излишнюю влагу, благодаря чему препарат не тускнеет. Все же кристаллы со временем теряют свою форму или распускаются.

С целью сохранения и окраски мочевых осадков Козловский с большим успехом пользовался жидкостью, которая состоит из равных частей дистиллированной воды, глицерина и водного, насыщенного при кипячении раствора мышьяковистой кислоты; все три жидкости смешивают и прибавляют к ним кусками аравийской камеди столько, чтобы последняя заняла половину жидкости; дают смеси постоять 3 недели, помешивая ежедневно стеклянной палочкой, пока гумми-арабик не растворится вполне; получается жидкость, слегка желтоватая, по консистенции напоминающая касторовое масло. Особенность этой жидкости заключается в том, что в нее можно переносить окрашенные препараты мочи прямо из воды; вначале тусклые, они по мере пропитывания жидкостью становятся светлее. Способ употребления этой жидкости такой: в пробирку для центрифугирования наливают 1 см<sup>3</sup> слабого водного раствора какой-либо анилиновой краски (1% эозина), затем мочу центрифугируют. Получается хорошо окрашенный осадок. Если мало осадка, сливают первую порцию мочи, приливают вторую, центрифугируют, снова сливают и т. д. до получения достаточного количества осадка. Осадок захватывают пипеткой, смешивают его на предметном стекле с заранее приготовленной каплей жидкости и покрывают покровным стеклом. Подобные препараты могут сохраняться годами без всяких изменений; иногда только происходит легкое обесцвечивание вследствие перехода краски в сохраняющую жидкость. Гиалиновые цилиндры при этом окрашиваются в нежно-розовый цвет; зернистые и восковидные окрашиваются гораздо интенсивнее; в эпителиальных клетках более темное ядро выступает на фоне светлой протоплазмы; красные и белые кровяные шарики также хорошо окрашиваются. Для окраски бактерий лучше брать генцианвиолет.

Хорошо сохраняются форменные элементы мочи, если их после промывания соевым раствором обработать в течение 5 минут раствором 1:20 сулемы и затем поместить в 2—10% формалин.

Независимо от стремления сохранить препарат иногда прибегают к окрашиванию свежей капли осадка для более легкого нахождения или лучшего дифференцирования форменных элементов. Можно пользоваться с этой целью раствором Люголя. Хорошие результаты получают также следующим способом: на один конец предметного стекла, слегка подогретого на пламени горелки, кладут каплю концентрированного раствора



генцианвиолета в 96% спирте и краем другого стекла размазывают краску по всей поверхности так же, как делают мазок крови. Краска тотчас же высыхает. На приготовленное таким образом стекло кладут, как обычно, каплю осадка и покрывают покровным стеклом. Спустя 2 минуты уже достигнуто максимальное окрашивание. Можно также к капле осадка на предметном стекле добавить 1 каплю 0,5% раствора кристалвиолета в 70% спирте; если желательнее одновременно окрасить жир, то берут спирт, насыщенный суданом III.

Фиксацию мочевых осадков для исследования на присутствие в них микроорганизмов лучше всего производить метиловым алкоголем (3 минуты) или смесью из равных частей абсолютного алкоголя и эфира в течение получаса. После фиксации следует погружать стеклышко на короткое время в воду для растворения солей мочи и потом уже красить препарат различными анилиновыми красками. Фиксация осадка жаром при исследовании мочи не дает таких чистых препаратов, как обработка спиртом и эфиром.

Все осадки, встречающиеся в здоровой и патологической моче, можно разделить на две большие группы: неорганизованные и организованные.

### НЕОРГАНИЗОВАННЫЕ ОСАДКИ

Для распознавания характера неорганизованных осадков мочи весьма важно знать реакцию мочи, так как от нее зависит выпадение тех или других кристаллов. В кислой моче выпадают такие кристаллы, каких никогда не бывает в щелочной моче, и наоборот. Поэтому в дальнейшем будут рассмотрены отдельно сначала осадки кислой мочи и затем осадки слабокислой и щелочной мочи. Особую — третью — группу составят те весьма редкие неорганизованные осадки, которые встречаются исключительно в патологической моче.

1) **Осадки кислой мочи** (рис. 119 и 120). а) Мочекислые соли. Если при стоянии в моче образуется обильный кирпичнокрасный осадок и реакция резкокислая, то это, несомненно, осадок мочекислых солей, или уратов, окрасившихся увлеченным ими красящим веществом мочи. Этот осадок носит особое название — *Sedimentum lateritium*. Среди мочекислых солей преобладает мочекислый натрий, в меньшем количестве встречаются мочекислый калий, известь, магнезия, и только одна соль мочевой кислоты — мочекислый аммоний — выпадает в щелочной моче (в детской моче и этот осадок выпадает при кислой реакции). Выпадение мочекислого натрия происходит по реакции двойного разложения между кислым фосфорнокислым натрием и растворенными нейтральными уратами, причем последние превращаются в кислые, которые трудно растворимы и легко выпадают. Охлаждение благоприятствует выпадению уратов, при подогревании же образовавшийся осадок их быстро исчезает, и мутная моча просветляется. При прибавлении щелочи — 10% раствора едкого натра или едкого кали — ураты тоже сразу растворяются; эти две реакции обычно и служат для распознавания мочекислых солей. Если осадок растворился не целиком, то в нем содержатся, кроме уратов, еще другие соли или же форменные элементы или слизь. Под микроскопом ураты имеют вид мелких пигментированных зернышек, чем они резко отличаются от других сходных зернышек, состоящих из фосфатов, которые выпадают в щелочной моче и никогда не содержат желтого пигмента. При прибавлении уксусной или соляной кислоты из уратов образуются кристаллы мочевой кислоты в виде ромбических табличек, тоже пигментированных.



Часто ураты выпадают в таком количестве, что в микроскопическом препарате заполняют все поле зрения и мешают нахождению других форменных элементов. В таких случаях их необходимо растворить, что производят следующим образом: после центрифугирования сливают мочу с осадка, наливают на осадок 1—2 см<sup>3</sup> насыщенного раствора буры и борной кислоты (реактива Селена) и доливают пробирку до полна водой (лучше подогретой) или же наливают на осадок теплый (50—60°) физиологический раствор хлористого натрия, тщательно взбалтывают и вновь центрифугируют.

Иногда ураты образуют своеобразные уратовые цилиндры или же наложения на истинных цилиндрах; в обоих случаях их не следует смешивать с зернистыми цилиндрами (см. «Цилиндры»).

б) Мочевая кислота (рис. 121). Вместе с уратами или без них в кислой моче выпадают кристаллы мочевой кислоты, которые легко узнаются уже простым глазом, так как они представляют собой настоящий бурожелтый или золотистожелтый песок. Под микроскопом форма кристаллов весьма разнообразна, но почти всегда они имеют желтую окраску. Кристаллы мочевой кислоты чаще всего имеют форму ромбических табличек с притупленными углами или точильных брусков, бочек, снопов, гребней, иногда же встречаются в виде очень красивых друз, щеток, песочных часов, гимнастических гирь. Очень редко мочевая кислота встречается в форме бесцветных кристаллов: тогда ее легко смешать с кристаллами фосфорнокислой аммиак-магнезии. Для определения природы кристаллов следует прибегать к микрохимическим реакциям.

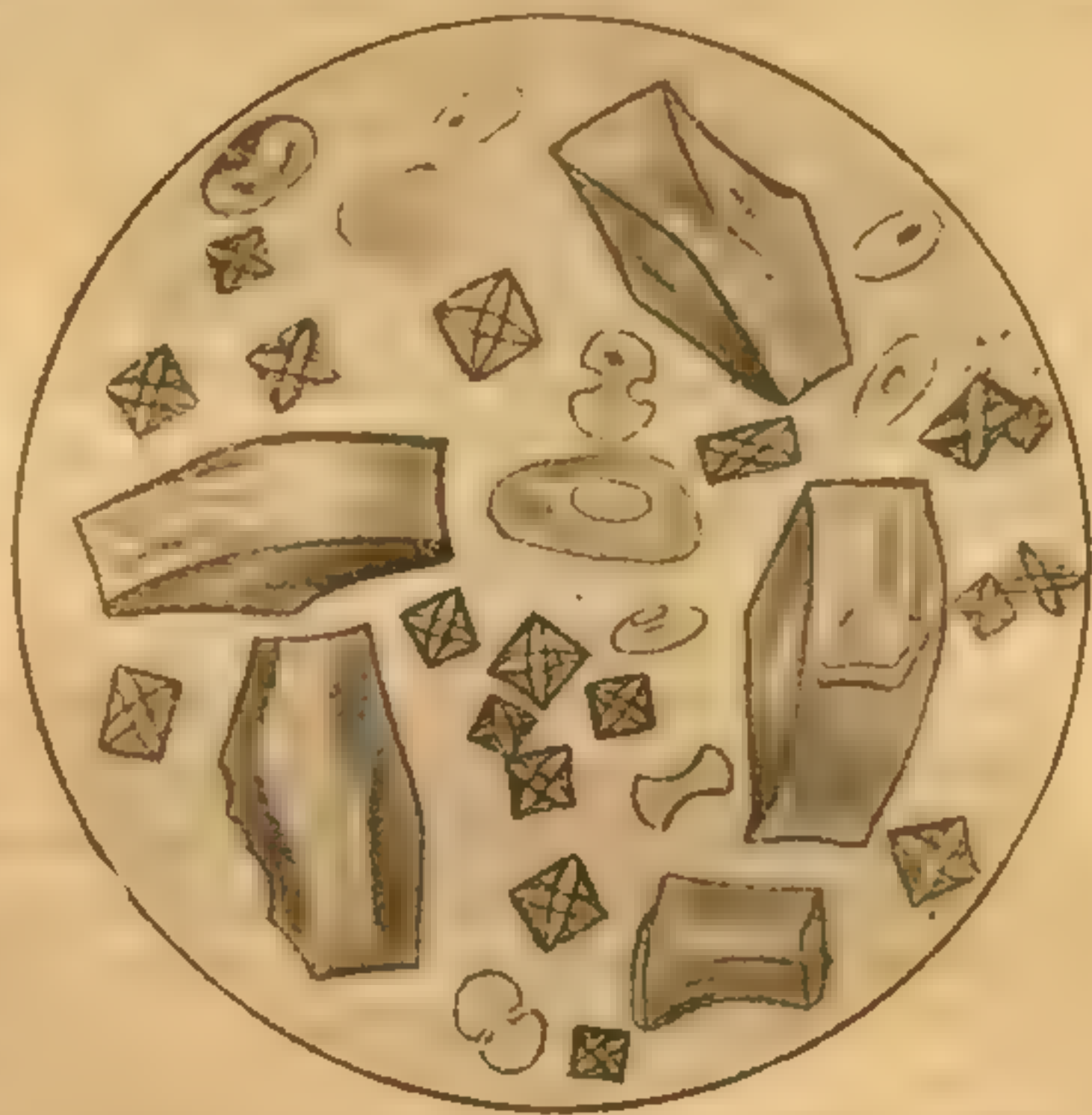


Рис. 121. Кристаллы мочевой кислоты и щавелевокислой извести (кальций).

От прибавления 10% едкого кали кристаллы мочевой кислоты растворяются, а от прибавления концентрированной соляной кислоты снова выпадают в форме очень мелких бледно окрашенных ромбических кристаллов. Выделение и растворение кристаллов мочевой кислоты никогда не происходят моментально, а всегда спустя только несколько минут после установки соответствующей микрохимической реакции.

Кристаллы мочевой кислоты так же, как и ураты, дают характерную мурексидную пробу; испытуемые кристаллы кладут на фарфоровую чашку, прибавляют 1—2 капли разведенной азотной кислоты и нагревают над пламенем газовой горелки или, лучше, на водяной бане; в случае присутствия мочевой кислоты после выпаривания образуется красноватая масса, которая от прибавления разведенного аммиака принимает пурпурно-красный цвет, а от едкого кали — фиолетовый цвет.

Большое диагностическое значение может иметь точное наблюдение за сроком выпадения мочеислого осадка: чем скорее в выпущенной моче появляется осадок, тем с большей степенью вероятности можно говорить о патологических свойствах мочи, в огромном большинстве случаев — о патологически кислой реакции (испытание кошенилью, см. «Реакция мочи»). Иногда, особенно при быстром охлаждении мочи,



осадок мочевой кислоты совместно с уратами или без них появляется уже в течение первого часа. Особенно большое диагностическое значение имеет нахождение кристаллов мочевой кислоты уже в свежевыпущенной моче, т. е. констатирование, что кристаллизация мочевой кислоты произошла уже в мочевыводящих путях. Нередко удается установить путем расспроса больных, что у них наблюдаются боли в области почек, постоянные или в виде приступов. При этом явлении, несомненно, играет роль не только реакция мочи, но и выпадение влияния «защитного коллоида».

На состояние мочекислых соединений — выпадение в осадок или пребывание в растворе, — наряду с абсолютным количеством их в моче, оказывают влияние следующие моменты: степень концентрации мочи, ее температура, степень кислотности и наличие так называемого защитного коллоида. Резко концентрированная моча встречается у здоровых людей после сильного потения и при малом введении жидкости в организм, далее, при всякой другой обильной потере воды (понос, рвота), при лихорадке, застое сердечного происхождения. Если такая моча при стоянии сохраняет кислую реакцию и охлаждается до комнатной температуры, то уже через несколько часов выпадает характерный осадок.

При резкокислой реакции мочи он может выпасть уже из мочи нормальной концентрации.

Абсолютное увеличение количества мочекислых соединений наблюдается при повышенном распаде клеток — при лейкемии, разрешающейся пневмонии; оно тоже может послужить причиной выпадения мочекислового осадка.

Наличие защитного коллоида играет очень большую роль для сохранения мочекислых соединений в растворе; к сожалению, о причинах его колебаний известно еще очень мало.

Из сказанного ясно, что выпадение в осадок уратов и мочевой кислоты совершенно ошибочно считают признаком склонности к подагре. Подагрическое состояние вне приступов характеризуется не высокой, а, наоборот, низкой концентрацией мочевой кислоты в моче. Патологическое выпадение мочекислых соединений происходит при подагре не в моче, а в тканях. Осадок из кристаллов мочевой кислоты весьма часто наблюдается при тяжелых степенях почечной недостаточности, хотя режим больного, казалось бы, мало располагает к образованию такого рода осадка. Причиной и в этом случае является резкокислая реакция мочи, обусловленная утратой почками способности образовать нейтрализующий ее аммиак (см. «Аммиак»). В этом отношении осадок может служить для оценки функции пораженных почек.

При образовании почечных камней обыкновенно наблюдаются копьевидные формы кристаллов, прилегающие один к другому и к другим кристаллическим формам, снабжая их придатками в виде штыков. Острые углы кристаллов и служат причиной гематурии, наблюдаемой при почечных камнях (если последние состоят из мочевой кислоты, что наблюдается относительно редко).

Кристаллы мочевой кислоты можно получить и из прозрачной нормальной мочи, если прибавить к ней соляной кислоты и поставить на холод. При этом обыкновенно выделяются крупные темнобурые кристаллы в форме гвоздей и снопов.

в) Щавелевокислый кальций (рис. 122) имеет весьма характерную форму сильно преломляющих свет квадратных октаэдров (почтовые конверты), иногда крупных, иногда же настолько мелких, что для рассмотрения их требуется более крупное увеличение. Но встречаются и другие, более редкие формы кристаллов: бисквиты, гимнастические гири





Рис. 119. Кристаллы мочевой кислоты  
и мелкозернистые кучки уратов.

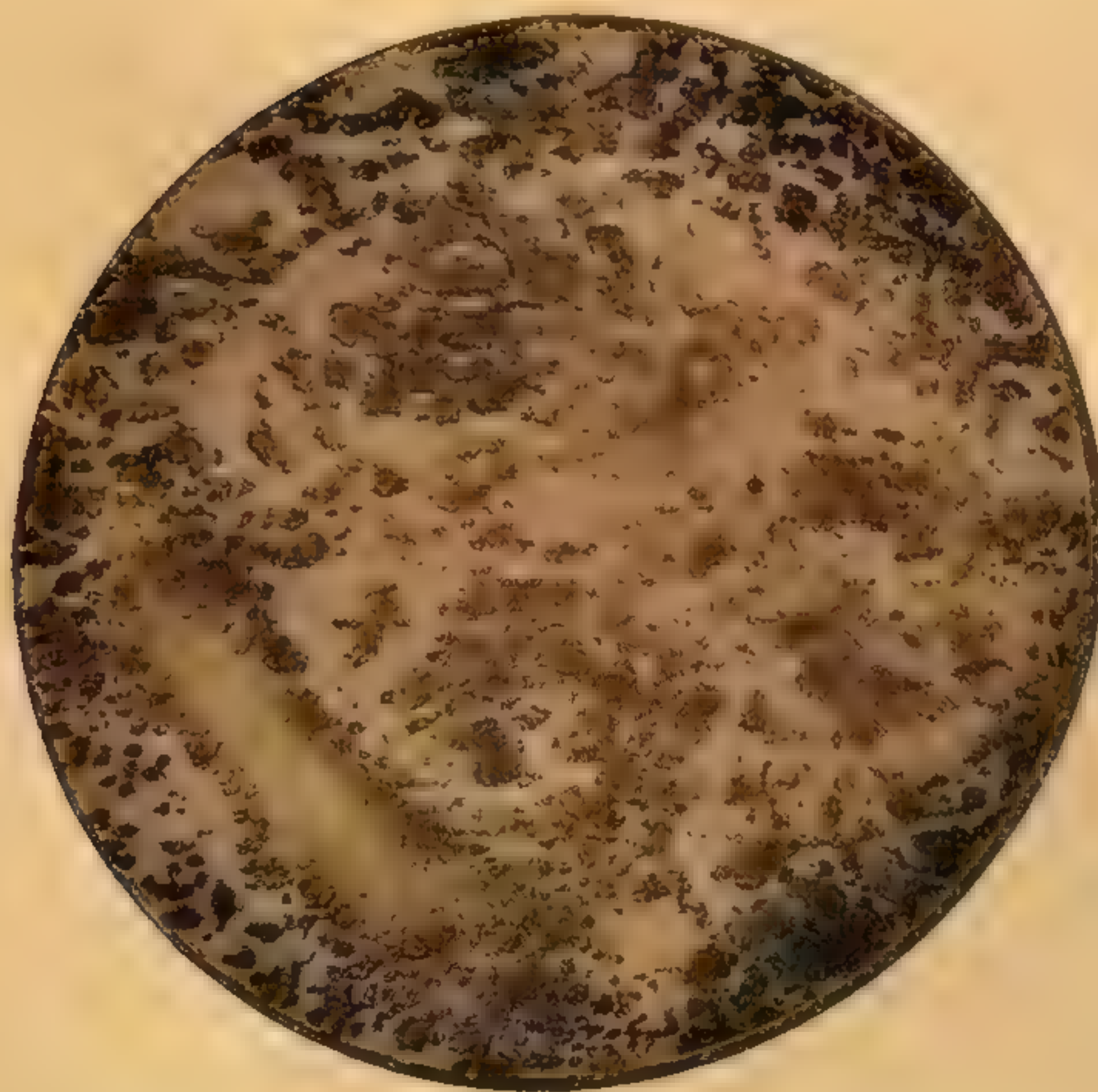


Рис. 120. Мочекислые соли, или ураты (мочекислый  
натрий, калий, известь, магnezия).





Рис. 124. Гиппуровая кислота.



Рис. 125. Сернокислая известь (кальций, гипс).



Рис. 126. Аморфные фосфорнокислые земли, фосфорнокислая аммиак-магнезия (трипель-фосфат) и кристаллы мочекислового аммония.

двух видов. Так как  
известен только  
не в слабом  
Кальций  
и в нейтральной  
Они удерживают  
фосфорнокислого  
нейтральную фос-  
фени кислотность  
в осадок. В эт  
ние осадка, сле  
дается при гыде  
ном абсолютно  
Щавелевая  
от мочевой и ф  
дит главным о  
этому выпаден  
велевокислого  
дят и у здо  
употребления  
левой кислот  
помидоры, ща  
зеленые бобы  
тов — виногра  
брусника и д  
условиях оса  
в моче толь  
стояния. В о  
фактор вре  
шее диаг  
чение. Г  
выпущенно  
роткое вре  
может им  
звolyют пр  
продукты  
жают ней  
шен и об  
расстрой  
повидимо  
лурией.  
г) Ф  
 $\text{CaHPO}_4$   
иногда и  
имеют  
при это  
встреча  
с непра  
д)  
редко,  
пами в  
от моч  
от фо



двойные пирамиды и т. п., которые не всегда можно узнать по внешнему виду, так что приходится прибегать к химическим реакциям. Кристаллы щавелевокислого кальция отличаются от фосфатов тем, что растворяются не в слабых кислотах, например, уксусной, а только в соляной кислоте.

Кристаллы щавелевокислого кальция встречаются как в кислой, так и в нейтральной и щелочной моче.

Они удерживаются в растворе вследствие присутствия в ней кислого фосфорнокислого натрия (и защитного коллоида); переход последнего в нейтральную фосфорнокислую соль, сопровождающийся уменьшением степени кислотности мочи, способствует выпадению щавелевокислой извести в осадок. В этих случаях появление осадка, следовательно, наблюдается при выделении, не повышенном абсолютно или процентуально.

Щавелевая кислота в отличие от мочевой и фосфорной происходит главным образом из пищи. Поэтому выпадение кристаллов щавелевокислого кальция часто находят и у здоровых людей после употребления пищи, богатой щавелевой кислотой, куда относятся: помидоры, щавель, шпинат, спаржа, зеленые бобы, свекла, а из фруктов — виноград, яблоки, апельсины, брусника и др. Но при нормальных условиях осадок всегда образуется в моче только после длительного стояния. В отношении этого осадка фактор времени тоже имеет большое диагностическое значение. Появление его в свежесвыпущенной моче или через короткое время после мочеиспускания

может иметь диагностическое значение, если клинические симптомы позволяют предполагать наличие камня. Далее, если из пищи исключены все продукты, содержащие много щавелевой кислоты, а оксалаты продолжают неизменно выделяться, то можно говорить о своеобразном нарушении обмена, а именно о так называемом щавелевокислом диатезе. Эти расстройства обмена в настоящее время еще недостаточно изучены, но, повидимому, имеется некоторая связь между диабетом, подагрой и оксалурией.

г) Фосфорнокислый кальций вторичный (состава  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (рис. 123) встречается в слабокислой или амфотерной моче, а иногда и в начале щелочного брожения. Кристаллы фосфорнокислого кальция имеют вид клина; обычно эти клинья собираются в розетки, располагаясь при этом острыми концами внутрь, а широкими по периферии, но часто встречаются и поодиночке лежащие клинья или узкие тонкие пластинки с неправильными контурами. Растворяются в уксусной и соляной кислоте.

д) Гиппуровая кислота (рис. 124) встречается чрезвычайно редко, обыкновенно в форме ромбических призм, поодиночке или группами в виде щеток. Призмы эти не дают реакции на мурексид (отличие от мочевой кислоты) и не растворяются в уксусной кислоте (в отличие от фосфорнокислых солей). В большом количестве гиппуровую кислоту

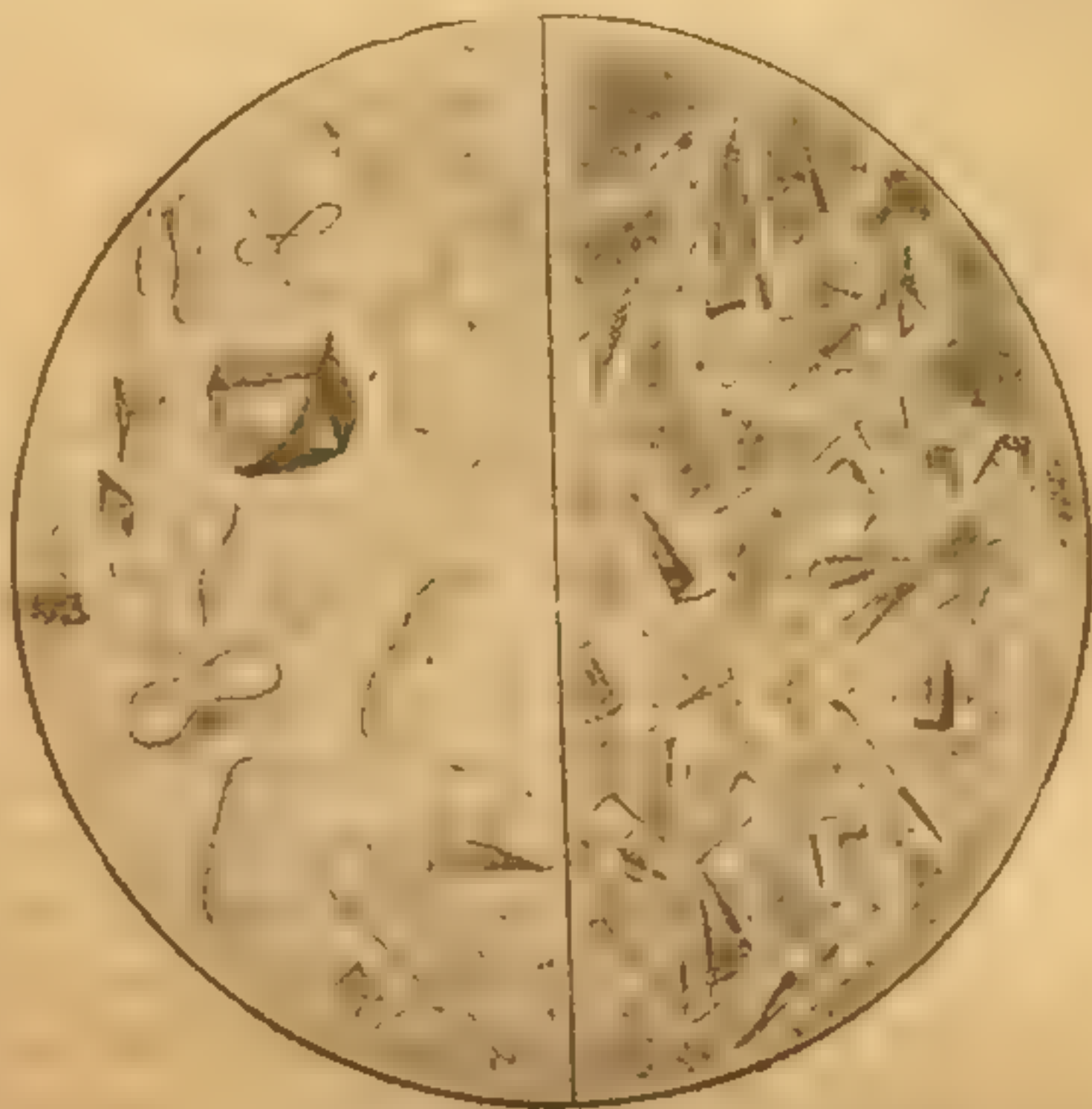


Рис. 122.

Рис. 123.

Рис. 122. Различные формы кристаллов оксалатов кальция (слева).

Рис. 123. Фосфорнокислый кальций и аморфные фосфаты (справа).



можно найти после приема бензойной и салициловой кислоты и некоторых плодов — брусники, черники и др.

Диагностическое значение невелико.

е) Сернокислый кальций (гипс) (рис. 125) встречается очень редко в мочевом осадке и притом только в сильнокислой моче. Он представляет длинные тонкие бесцветные иглы или розетки, которые отличаются большой устойчивостью к кислотам: ни соляная, ни уксусная, ни даже серная кислота не растворяет их. Кристаллы сернокислого кальция находили в моче больных, лечавшихся серными водами.

2) **Осадки щелочной мочи.** а) Аморфные фосфорнокислые земли (фосфорнокислый кальций, фосфорнокислая магнезия) встречаются в щелочной и амфотерной моче, нередко совместно с трипельфосфатом. Они имеют вид бесцветных мелких зернышек и шариков, группирующихся в неправильные кучки (рис. 126). На поверхности мочи они нередко образуют пленку. Они легко растворяются при прибавлении кислот, например, уксусной, и не растворяются при подогревании; наоборот, осадок при этом делается еще более обильным; этим они существенно отличаются от сходных с ними по величине аморфных зернышек мочекислых солей; кроме того, последние встречаются только в кислой моче и обыкновенно бывают окрашены. Фосфаты, подобно уратам, иногда могут симулировать цилиндры.

У некоторых людей часто или почти всегда выделяется моча с обильным осадком фосфатов или же фосфаты выпадают при нагревании мочи (скрытая фосфатурия). Обычно выпадение фосфатов обусловливается пониженной кислотностью мочи, которая в свою очередь зависит либо от повышенного выделения соляной кислоты с желудочным соком и задержки ее в желудке, либо от потери соляной кислоты с рвотными массами или при промывании желудка. После обильной еды у совершенно здоровых людей можно наблюдать преходящую фосфатурию.

Особое значение придавали временной или постоянной фосфатурии у неврастеников и считали это явление даже особым фосфатурическим диатезом. Однако оказалось, что при этих формах количество фосфорной кислоты не увеличено, а наблюдается резкое увеличение выделения кальция, почему и происходит выпадение фосфорнокислой извести. В общем это расстройство обмена еще мало изучено.

б) Фосфорнокислая аммиак-магнезия (трипельфосфат). Кристаллы трипельфосфата, или фосфорнокислой аммиак-магнезии (рис. 126), встречаются в моче обычно совместно с аморфными фосфатами. Они имеют форму бесцветных трех-, четырех- или шестиугольных призм с косо спускающимися плоскостями на концах, похожих на гребенчатые крышки. Иногда попадаются редкие формы, напоминающие снежинки, сани, бородку пера и т. п. Кристаллы трипельфосфата легко растворяются даже от прибавления слабых кислот, например, уксусной, в противоположность щавелевокислой извести, с кристаллами которой их иногда можно смешать. Аморфные фосфаты и трипельфосфат выпадают в осадок при всех условиях, вызывающих выделение щелочной мочи: при растительной пище, питье минеральных вод, при воспалении мочевого пузыря; в последнем случае выделяется также большое количество гноя и микробов, что все вместе создает характерную картину. Но эти же соли, естественно, выпадают и в том случае, если моча стала щелочной уже после выделения ее из организма, так что, получив для исследования щелочную мочу с присущим ей осадком, следует прежде всего осведомиться о степени свежести и об условиях хранения мочи, а затем уже придавать своей находке какое-либо диагностическое значение.



Кристаллы трипельфосфата могут выпадать уже в начале щелочного брожения, раньше чем моча стала щелочной.

в) Мочекислый аммоний (рис. 127). Вместе с кристаллами трипельфосфата весьма часто содержатся в щелочной моче также кристаллы мочекислого аммония; это единственная соль мочево́й кислоты, встречающаяся в щелочной моче. Мочекислый аммоний кристаллизуется в форме сильно пигментированных желтобурых шаров, которые часто снабжены по периферии отростками в виде шипов и образуют фигуры, напоминающие плод дурмана или корни растений; реже мочекислый аммоний выпадает в виде гимнастических гирь, похожих на аксалуровую кислоту. Характерными свойствами кристаллов мочекислого аммония являются: растворимость при нагревании и выпадение вновь в осадок при охлаждении мочи, растворимость в соляной и уксусной кислоте с постепенным выделением мочево́й кислоты в форме ромбических табличек; в щелочах мочекислый аммоний растворяется с образованием аммиака; кроме того, он дает мурексидную пробу (стр. 379), что отличает его от карбонатов.

В детской моче мочекислый аммоний выпадает и при кислой реакции.

г) Нейтральная фосфорнокислая известь (рис. 128). Кристаллы нейтральной фосфорнокислой извести имеют вид больших продолговато-ромбических табличек, большей частью с косо насаженной концевой гранью. Нередко два кристалла плотно прилегают один к другому; поверхности их бывают изъедены, так что получается шагреневый вид. Иногда к обоим полюсам кристаллов присоединяются неправильные кристаллические иглы, идущие параллельно длинной оси кристалла; иглы эти относятся к более поздней кристаллизации. Описанные кристаллы, подобно другим фосфатам, легко растворяются в уксусной кислоте, чем и отличаются от сходных с ними кристаллов сернокислой извести. В калийной и натронной щелочах они нерастворимы.

д) Углекислый кальций (рис. 129) встречается редко; обычно он имеет вид маленьких шариков, соединенных между собой или попарно в форме гимнастических гирь, или же кучками из 4, 6 и более шариков. От прибавления соляной кислоты происходит быстрое растворение кристаллов с выделением пузырьков газа ( $\text{CO}_2$ ).

3) Редкие осадки, встречающиеся исключительно при заболеваниях. а) Цистин встречается в осадке мочи в форме мелких серовато-белых масс, которые под микроскопом дают правильные бесцветные прозрачные шестигранные таблички, лежащие рядом или одна на другой, напоминая шестигранный карандаш в поперечном разрезе. Кристаллы эти нерастворимы в воде, алкоголе и эфире, но растворимы в минеральных кислотах и в аммиаке, чем и отличаются от некоторых сходных кристаллических форм мочево́й кислоты, которые в калийной и натронной щелочах растворимы, а в аммиаке не растворяются. Ввиду редкости этой находки и ответственности диагноза, химическая реакция обязательна: полагаться на микроскопическую картину не следует. Цистин появляется при сравнительно редкой болезни, которая носит название цистинурии и бывает большей частью наследственной (у многих членов одной и той же семьи). При этой болезни моча обыкновенно выделяется мутной, зеленовато-желтого цвета, большей частью щелочной или очень слабокислой реакции; обильный серовато-белый осадок состоит из кристаллов и часто целых сростков цистина большей или меньшей величины. Относительно химического распознавания цистина см. «Цистиновые сростки».



б) Ксантин так же редко встречается в мочевых осадках, как инстин; он только тогда приобретает значение, когда увеличенное выделение ксантиновых тел ведет к образованию почечных или пузырных камней. Кристаллы ксантина имеют форму мелких бесцветных ромбов, напоминающих точильный камень; до некоторой степени они похожи на кристаллы мочевой кислоты, но отличаются от последних, во-первых, тем, что не дают мурексидной пробы, и, во-вторых, они одинаково хорошо растворимы как в калийной и натронной щелочах, так и в аммиаке и соляной кислоте, тогда как кристаллы мочевой кислоты ни в кислотах, ни в аммиаке не растворяются.

Если ксантин выпарить вместе со слабой  $\text{HNO}_3$  на водяной бане, то получится желтовато-белый остаток, который при дальнейшем осторожном нагревании над небольшим пламенем принимает интенсивно желтый цвет, переходящий от прибавления едкого кали в желто-красный, а при новом нагревании окрашивается еще темнее и, наконец, после выпаривания щелочи становится красно-фиолетовым.

в) Лейцин и тирозин (рис. 130) обыкновенно встречаются совместно и при одних и тех же болезненных формах, а именно: при тяжелых поражениях печени, неукротимой рвоте беременных, скарлатине и некоторых других инфекционных болезнях. Эти вещества редко самопроизвольно появляются в осадке в характерной кристаллической форме; большей частью они бывают растворены в моче, и для того, чтобы их оттуда добыть, мочу, удалив белок, если он имеется, выпаривают приблизительно до  $\frac{1}{10}$  объема и прибавляют немного спирта. Выпадающий при этом осадок исследуют под микроскопом.

Кристаллы лейцина имеют вид блестящих мелких шаров с радиальными и концентрическими полосками, наподобие поперечного разреза дерева; часто мелкие шарики отлагаются на периферии более крупных.

Тирозин образует очень тонкие шелковисто-блестящие иглы, собранные в виде нежных желтоватых пучков, двойных пучков или звезд с неправильным лучистым расположением игл.

Кристаллы лейцина можно иногда смешать с жировыми каплями; тогда сказывается действие эфира: он растворяет жир и оставляет без всякого изменения лейцин. От мочекислотного аммония лейцин стлывается круговой и лучистой исчерченностью, а также отсутствием шипов по периферии. Кристаллы тирозина можно смешать с кристаллами нейтральной фосфорнокислой извести, которые иногда также выделяются в форме кристаллических игл, собранных в пучки; но последние в отличие от тирозина легко растворяются в уксусной кислоте.

г) Жир и жировые кристаллы. Жир появляется в моче в виде мелких, сильно преломляющих свет шаров большей или меньшей величины; шары эти легко растворимы в эфире и дают на бумаге не исчезающее пятно; 1% раствор осмиевой кислоты окрашивает их в черный цвет. Еще лучшим реактивом для жира служит краска судан III, спиртовой раствор которой окрашивает капельки жира в оранжево-красный до пунцового цвет.

Наиболее простой способ окраски жира заключается в том, что к свежему или высушенному мочевому осадку прибавляют насыщенный раствор судана III в 96° спирте, но при этом получается довольно грязный препарат вследствие выпадения массы кристаллов судана от разжижения спирта водой, заключающейся во влажном материале. Лучше производить окраску суданом по способу Левинсона: берут 2 части насыщенного спиртового раствора судана III и 1 часть 10% раствора



Рис. 127. Мочекислоты  
мелкие кристаллы в моче



Рис. 129. Уг.  
(на)



Рис.



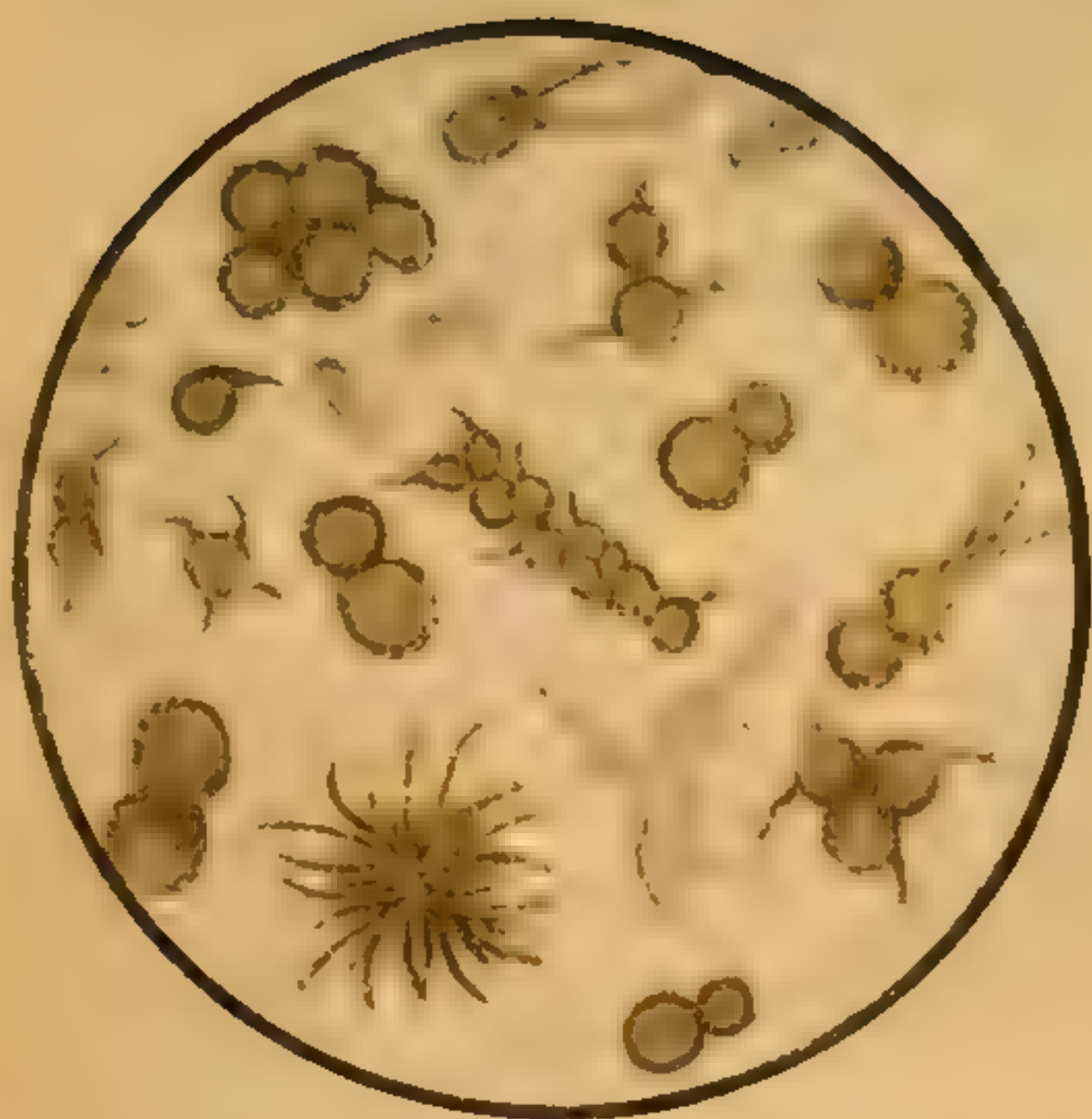


Рис. 127. Мочекислый аммоний (соль мочевой кислоты в щелочной моче).

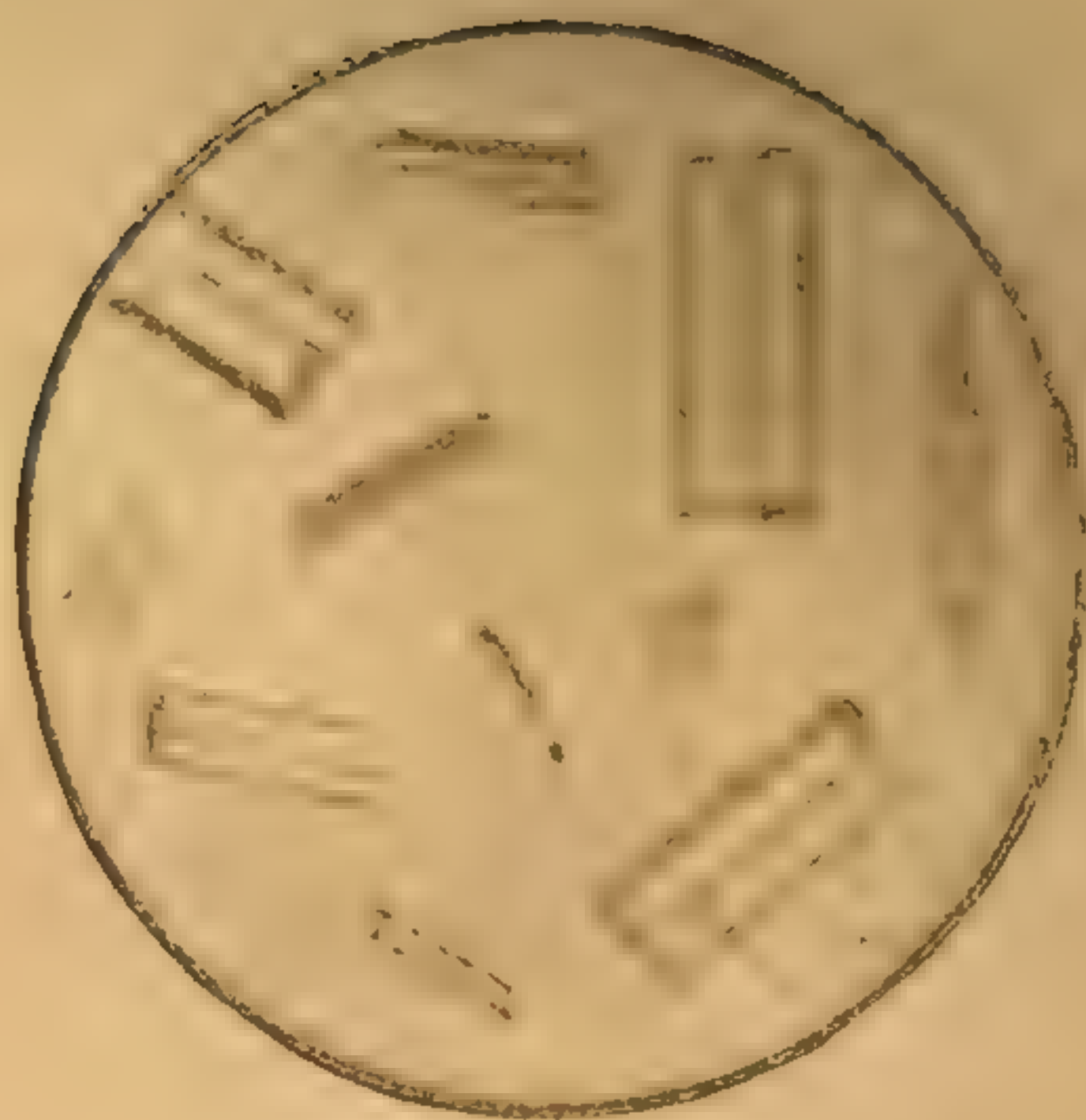


Рис. 128. Нейтральная фосфорнокислая известь.

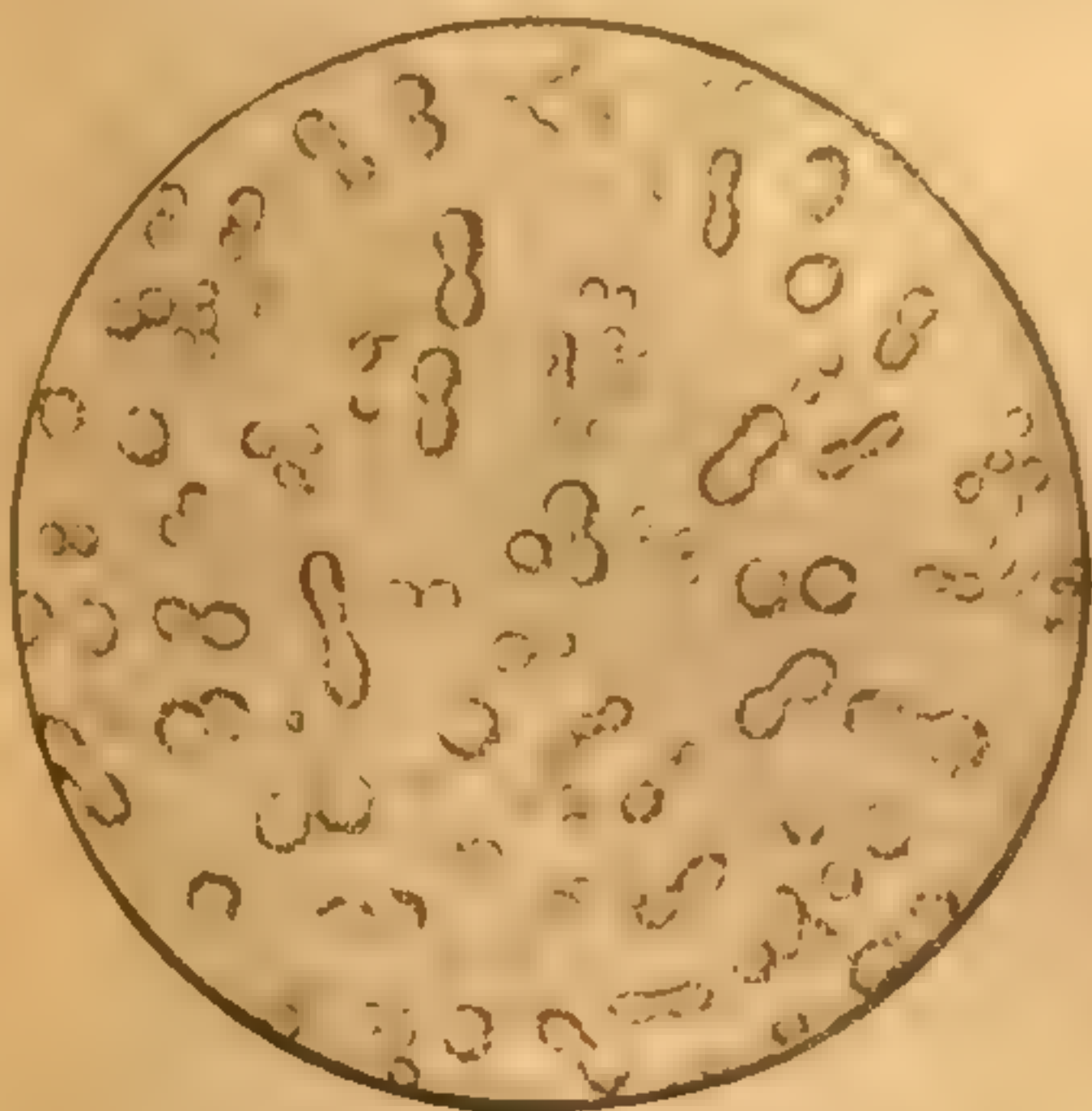


Рис. 129. Углекислая известь (кальций).

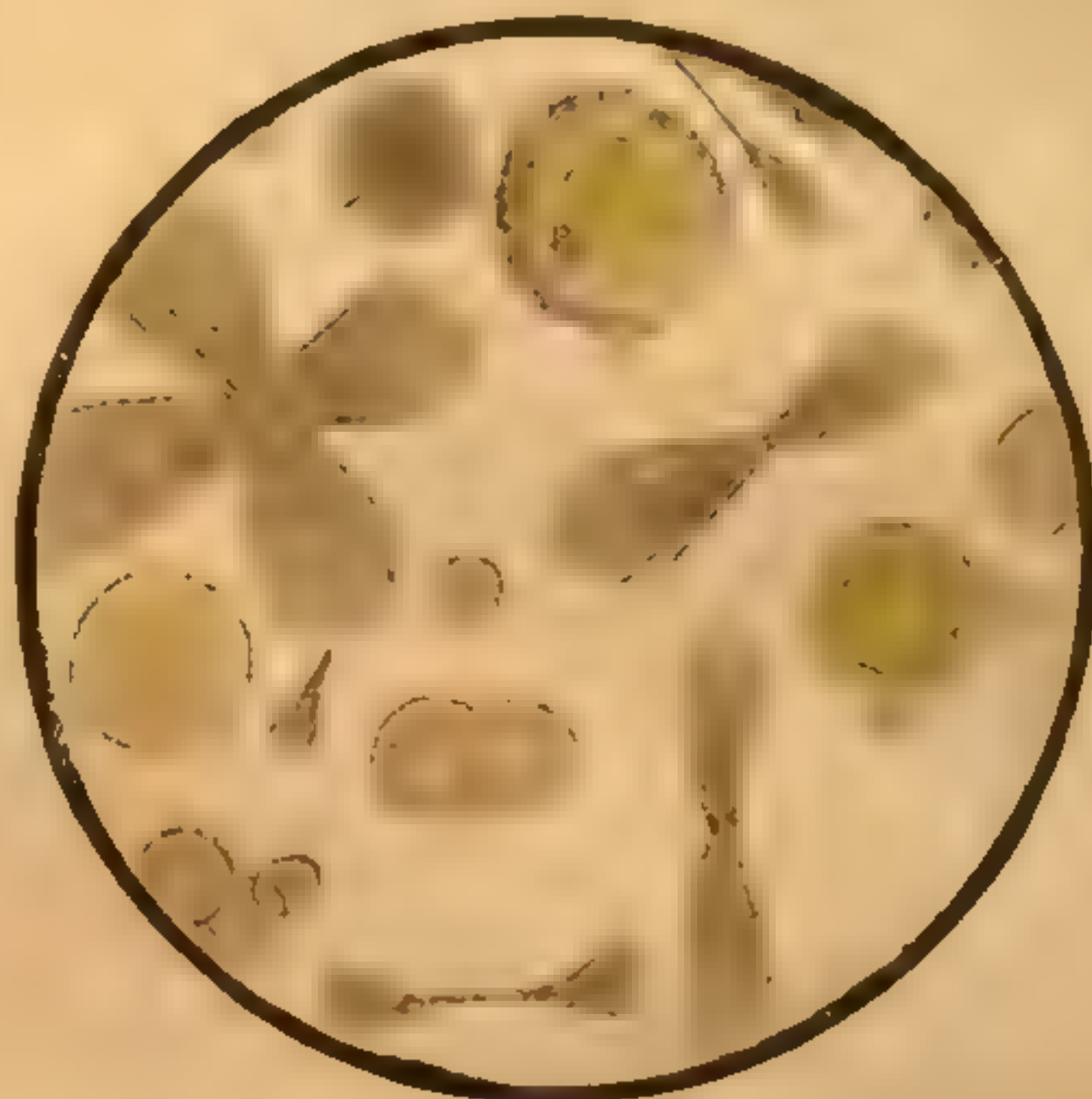


Рис. 130. Лейцин и тирозин.

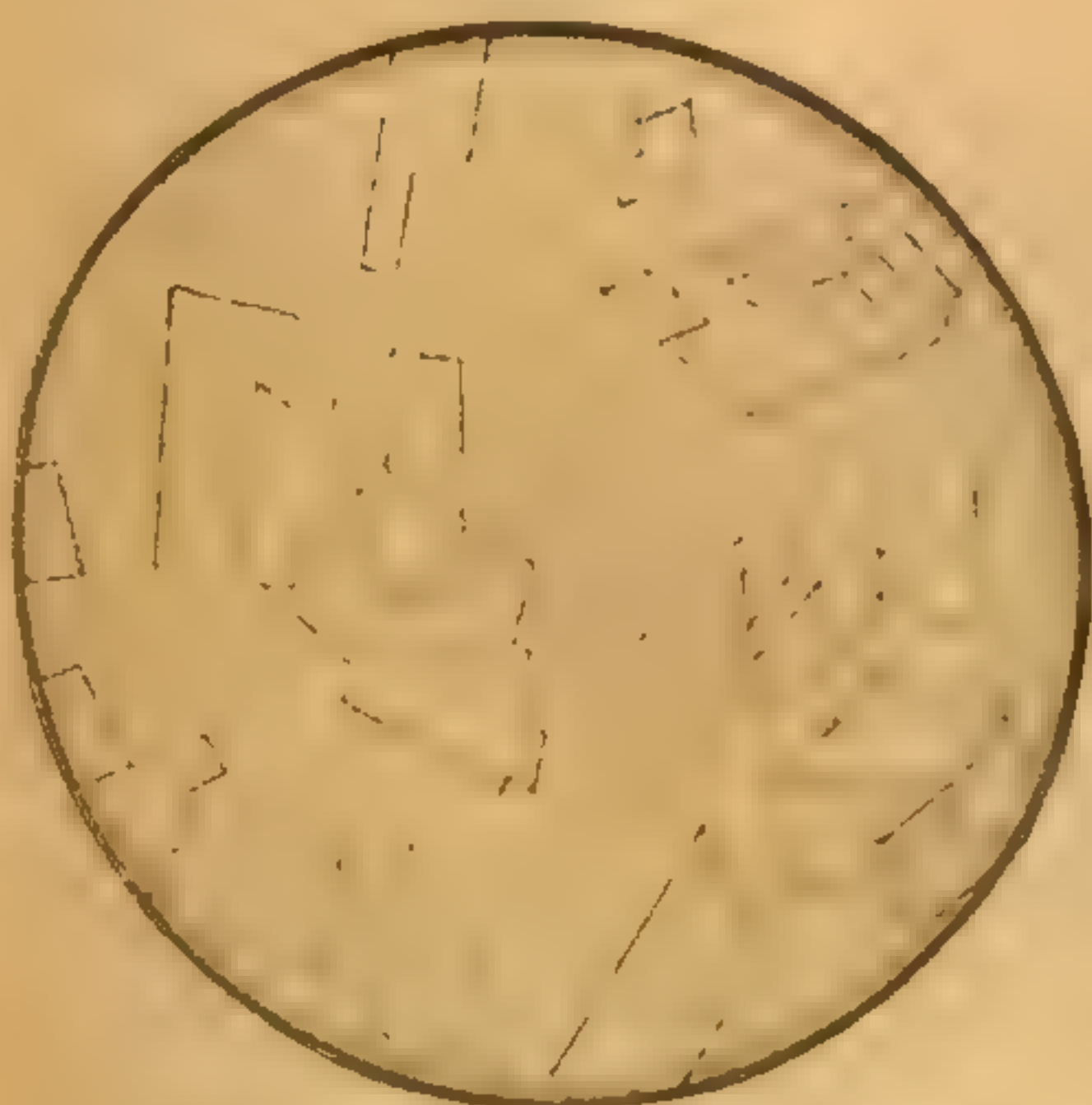


Рис. 131. Холестерин.

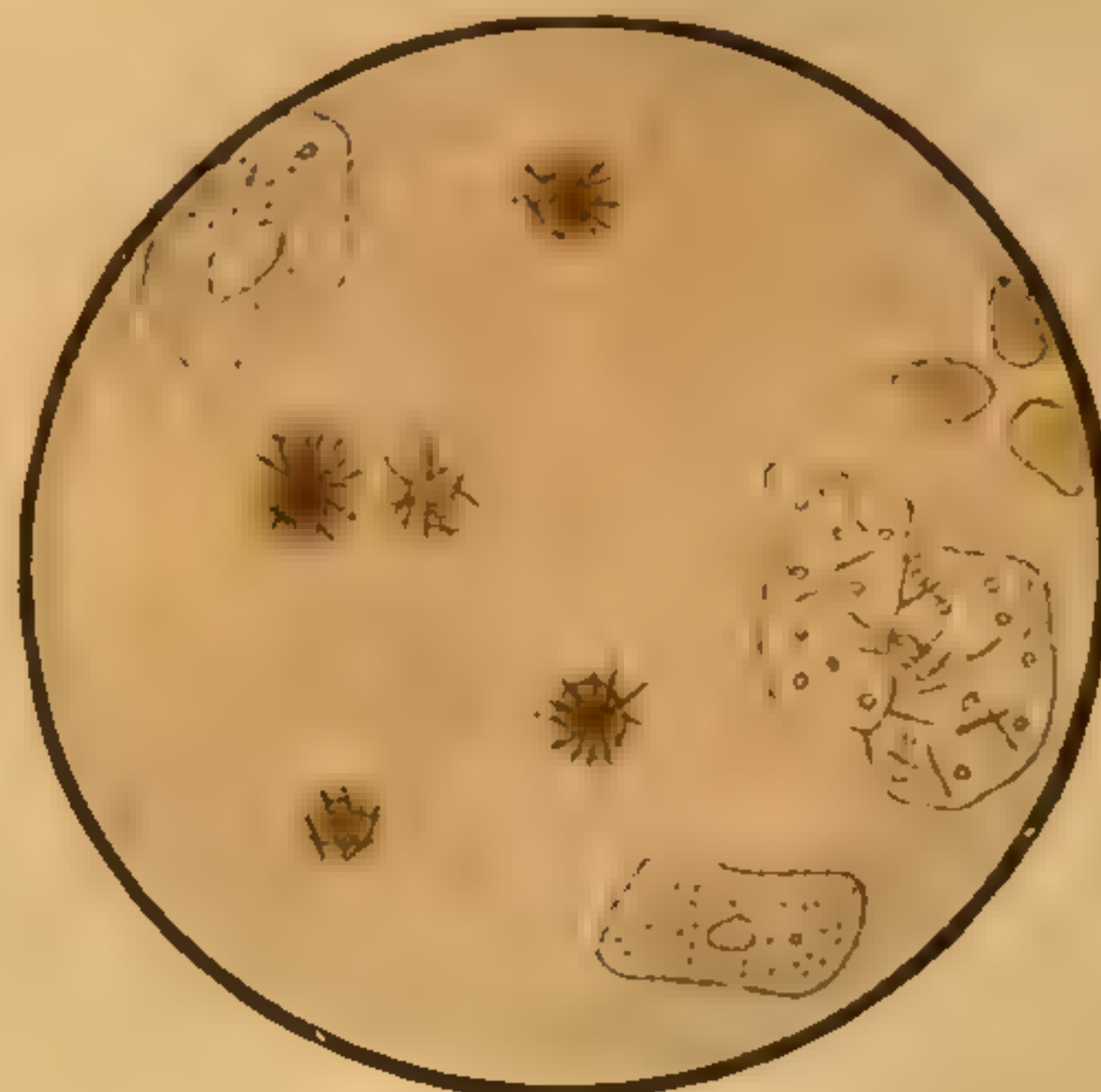


Рис. 132. Билирубин.



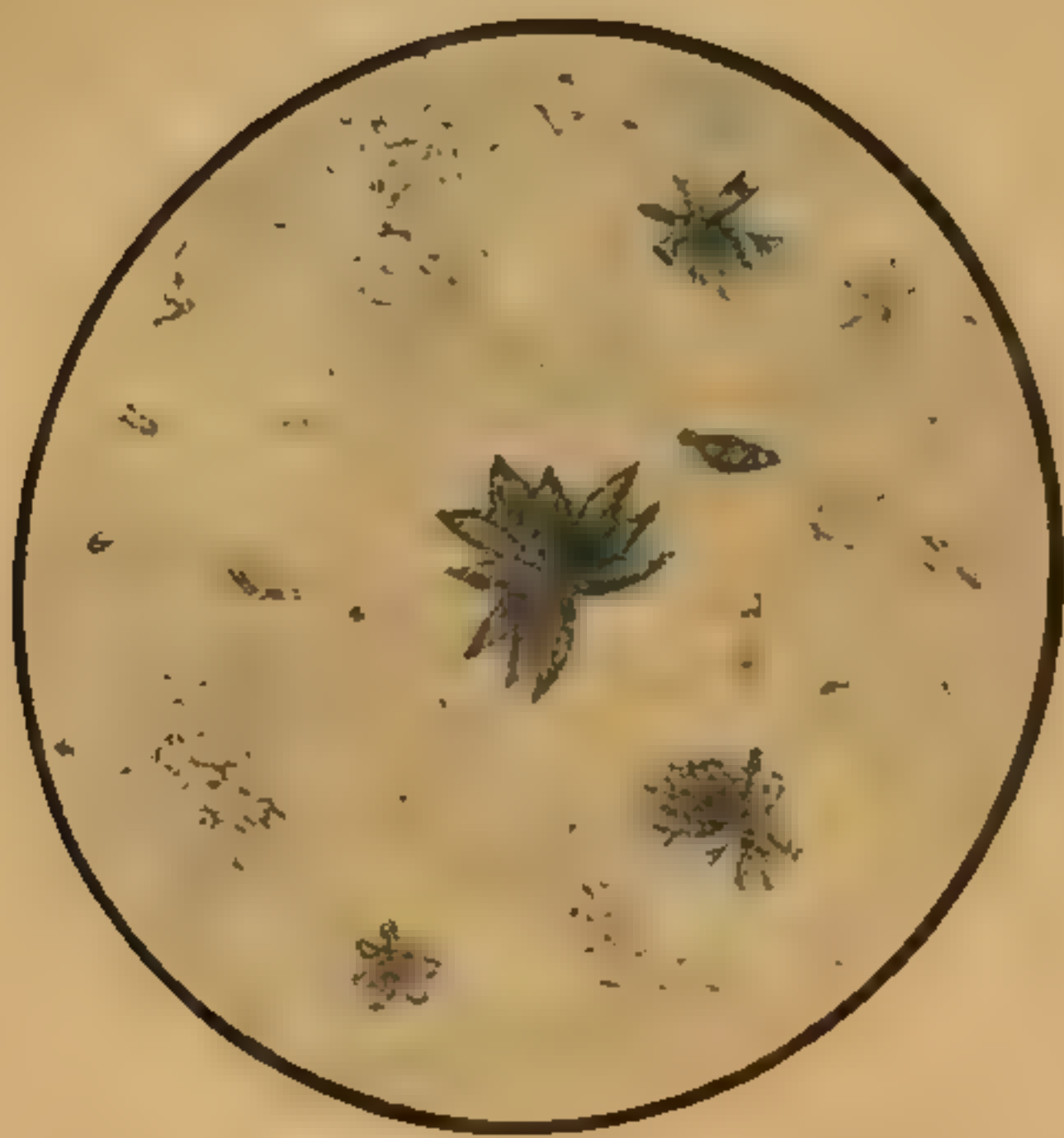


Рис. 133. Индиго.

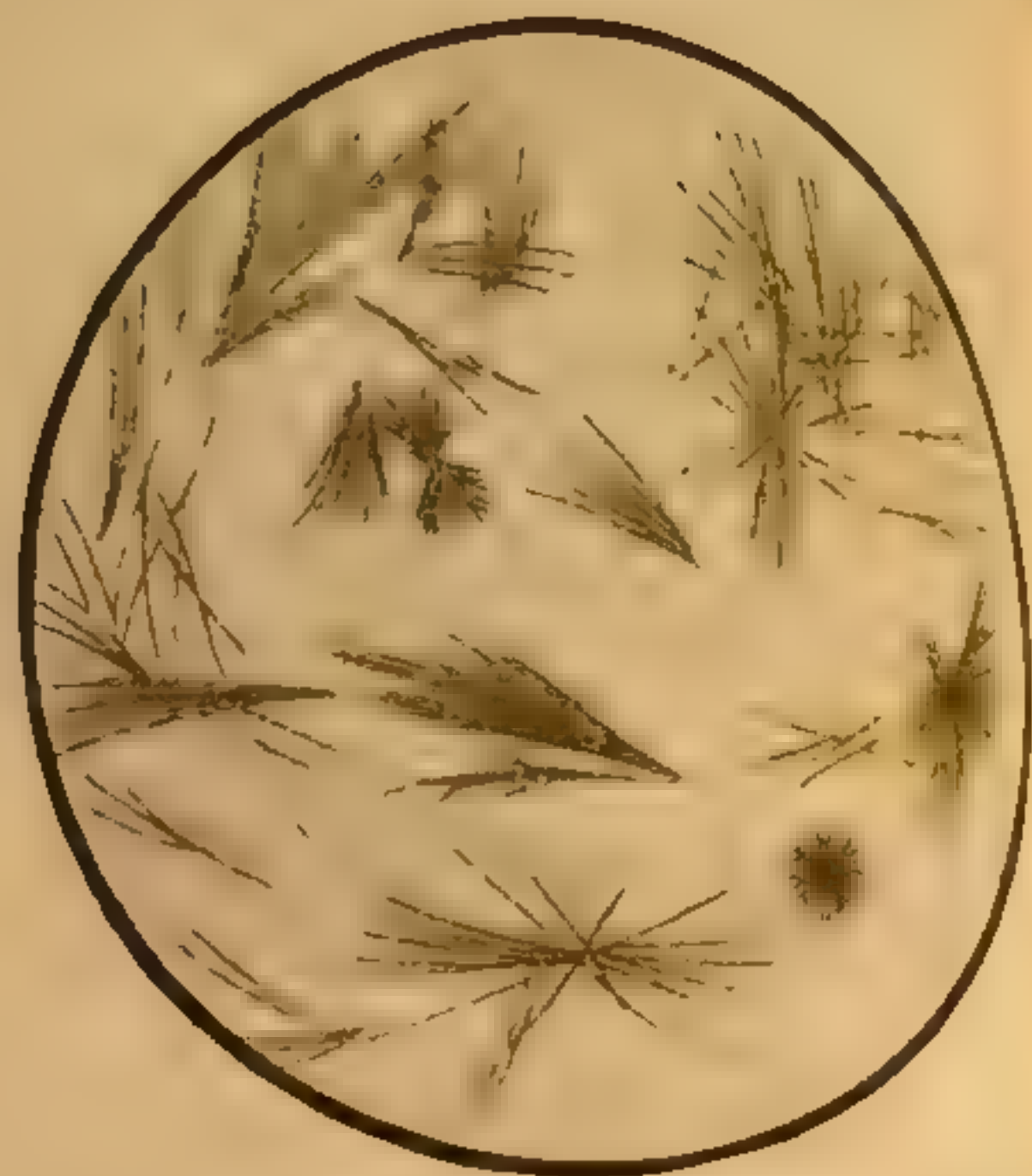


Рис. 134. Кристаллы фенилглюкозазона.

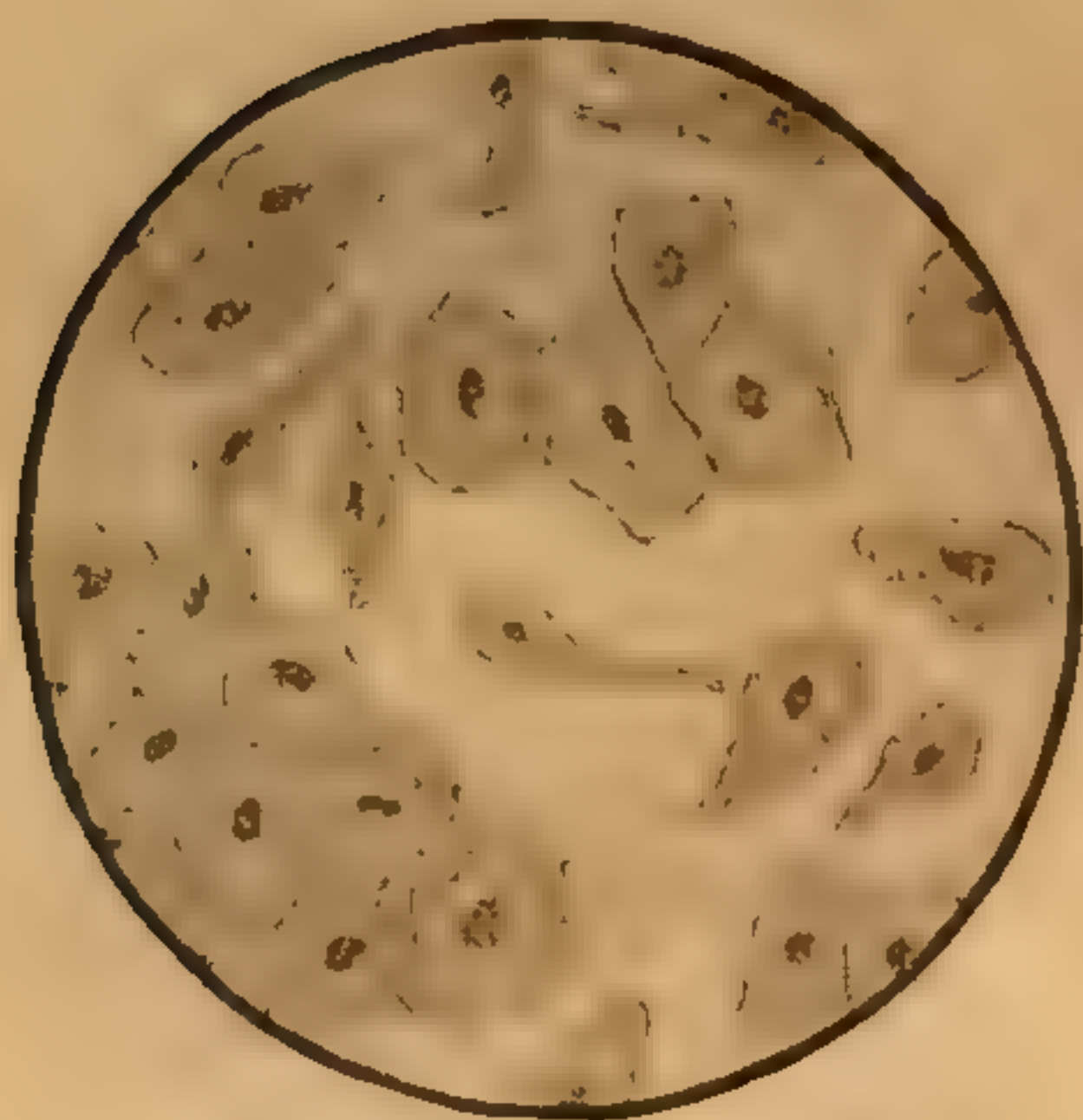


Рис. 135. Эпителий влагалища и мочевого пузыря.

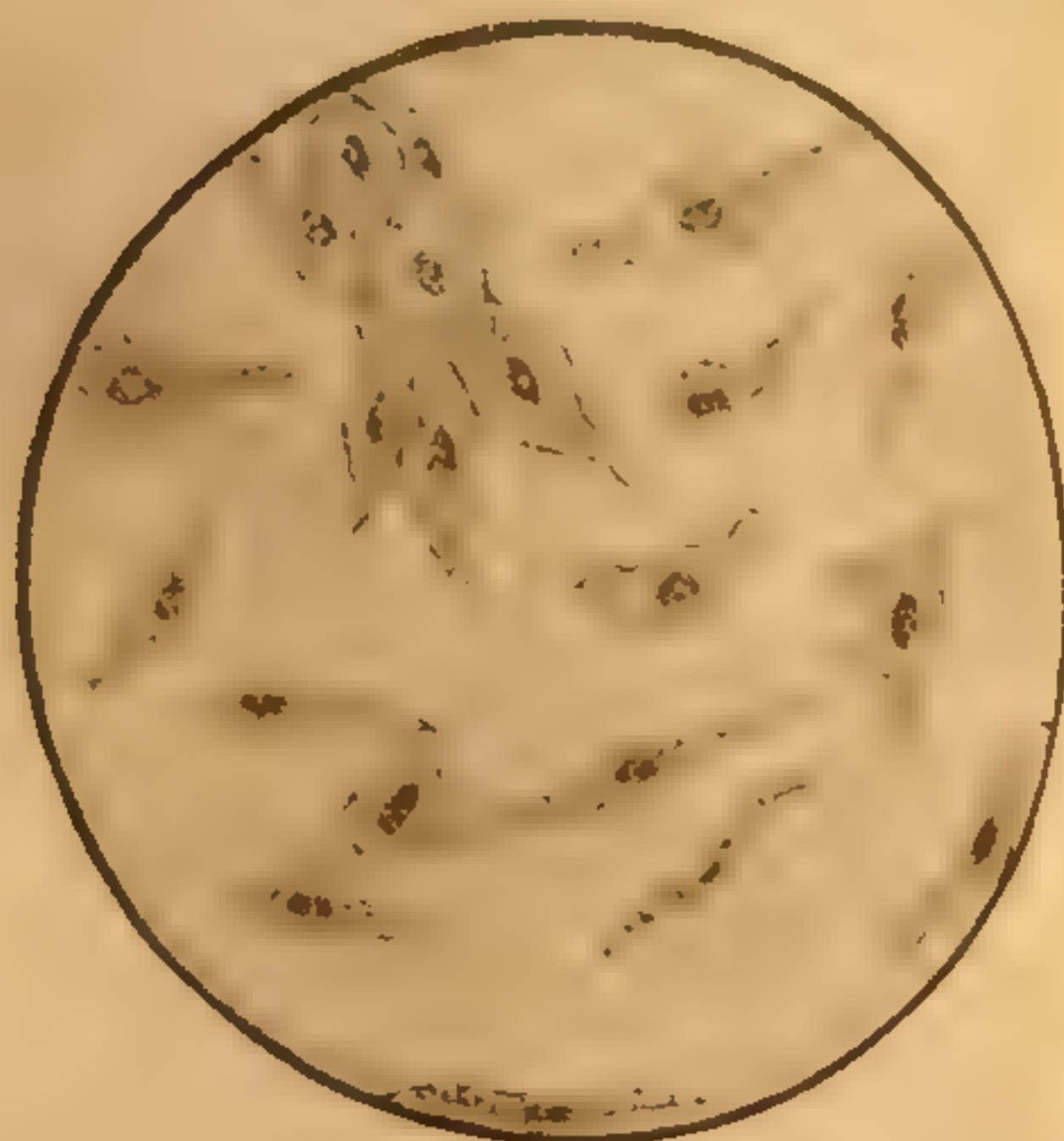


Рис. 136. Эпителий почечных лоханок.

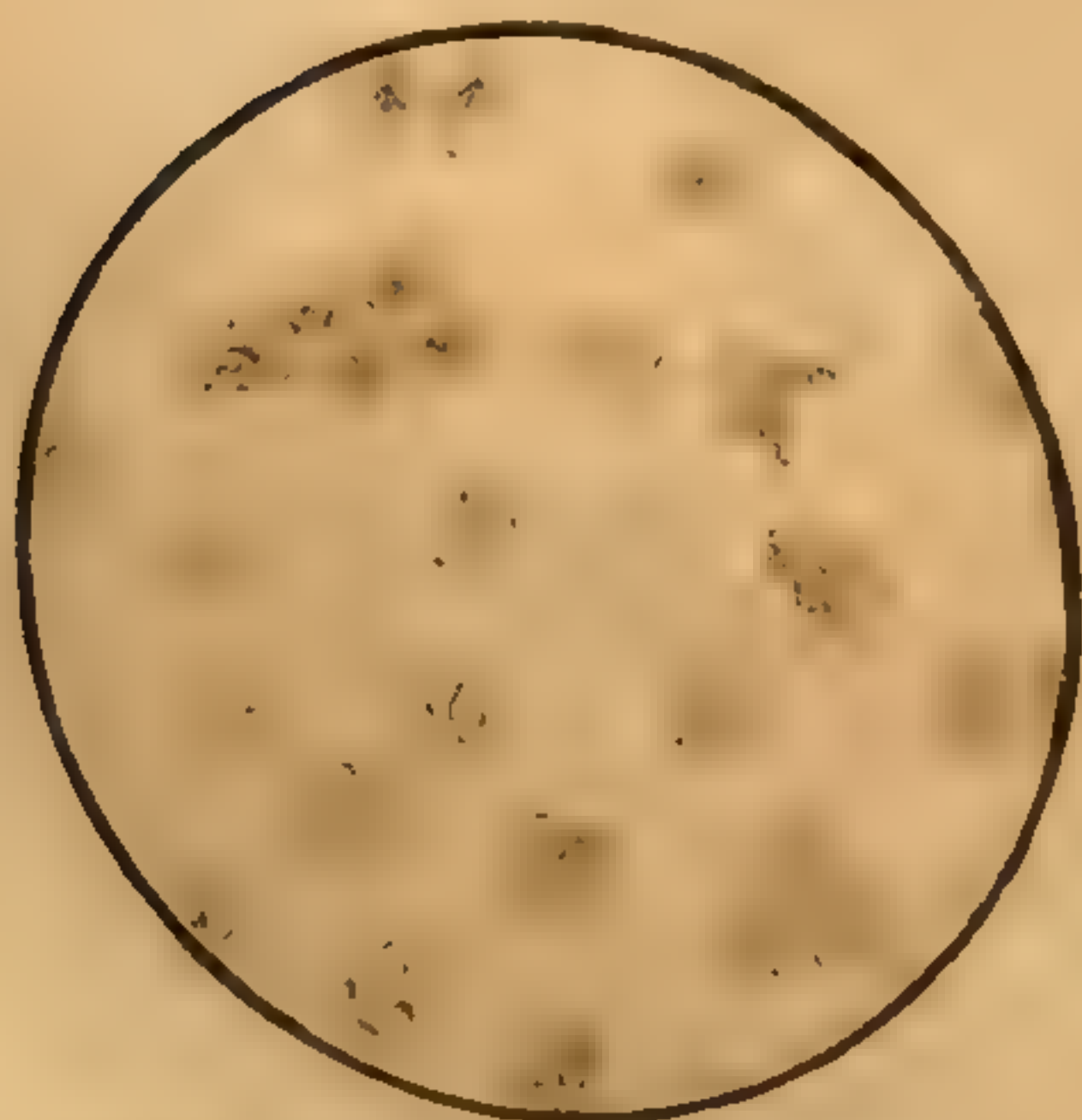


Рис. 138. Клетки почечного эпителия.

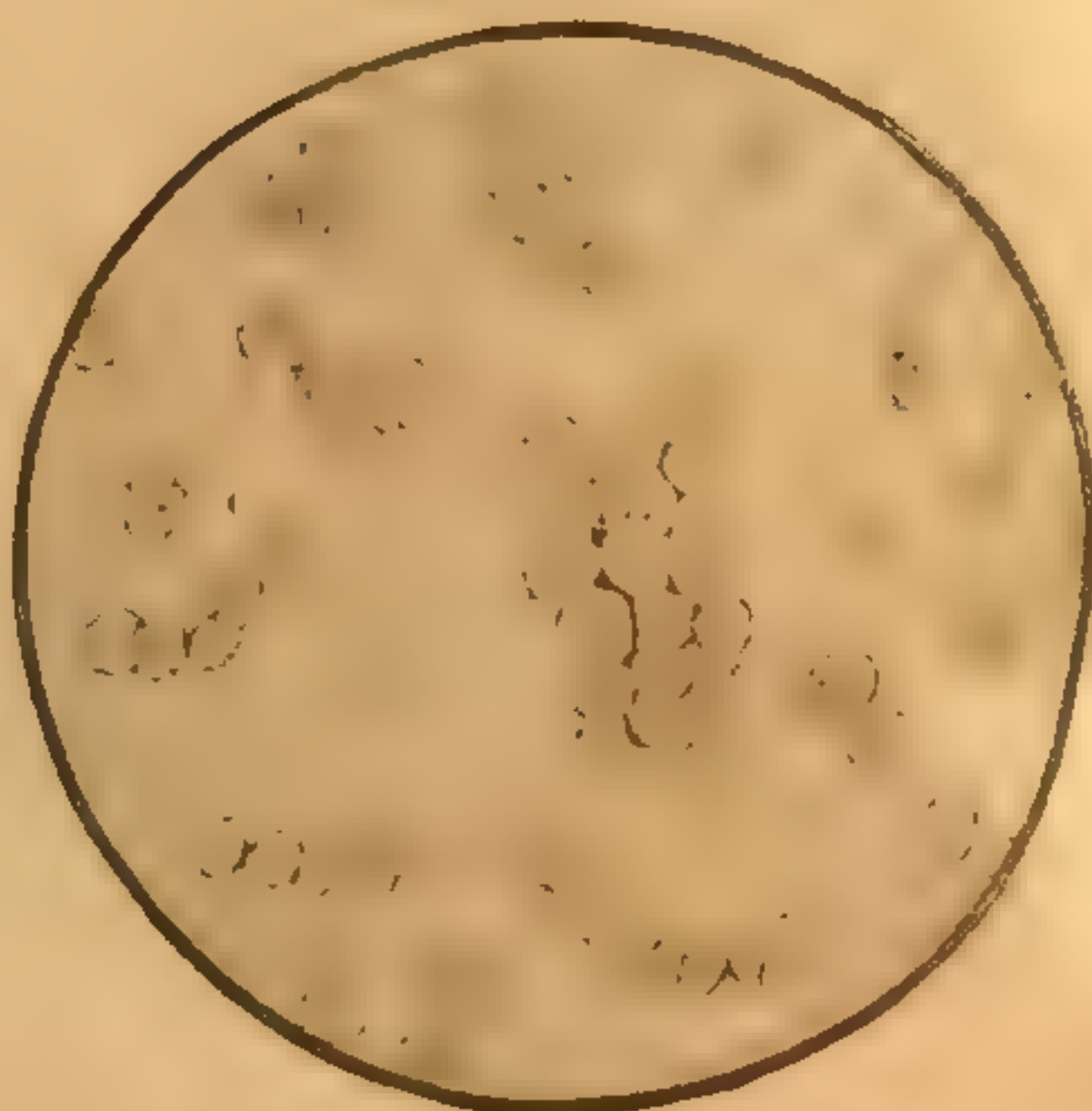


Рис. 139. Лейкоциты, расположенные одиночно и группами в виде цилиндров.

Рис. 140. Эритроциты, одиночно и в формах, частью выходящих

Рис. 142. Слева — гиалин



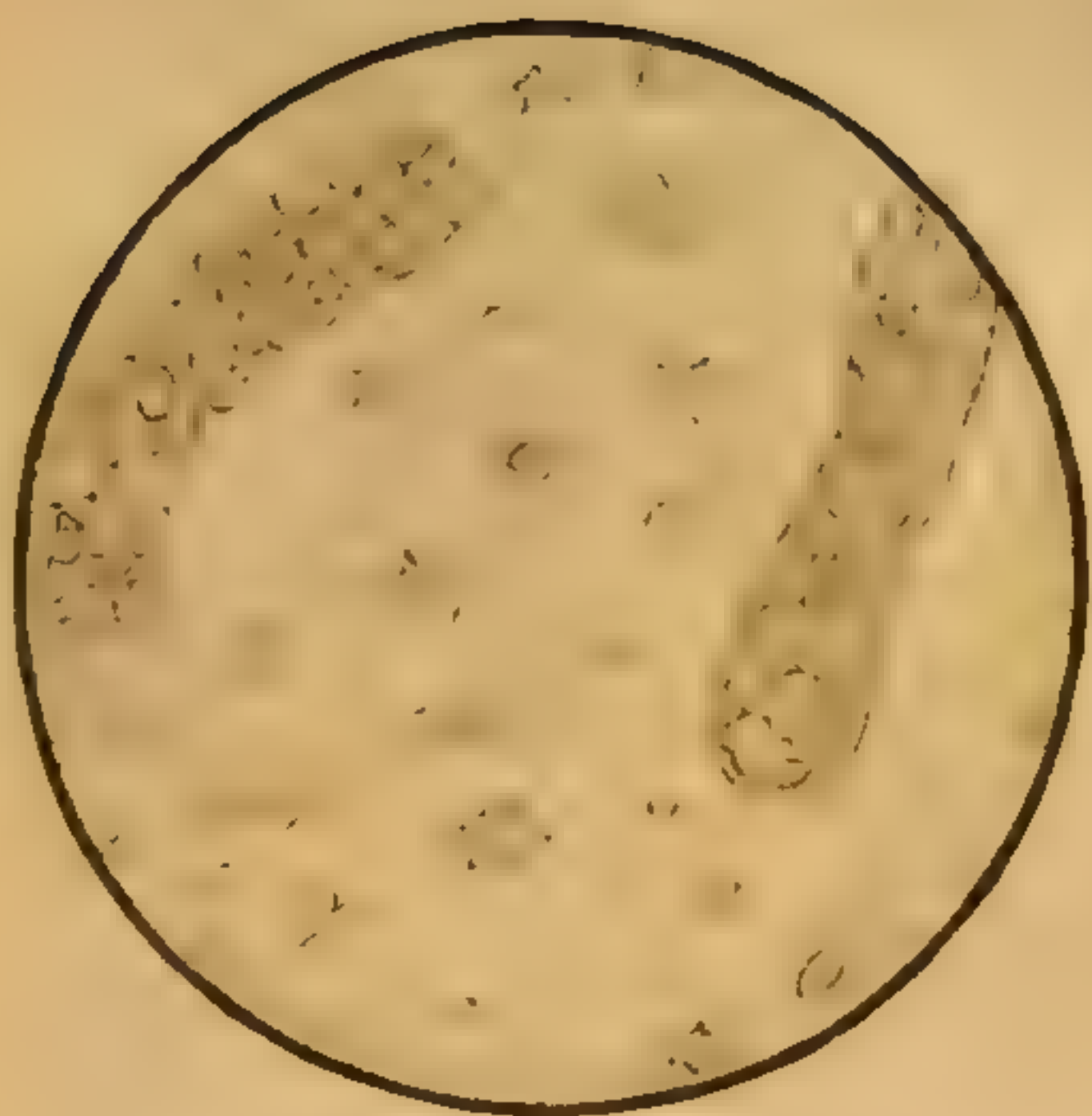


Рис. 140. Эритроциты, расположенные одиночно и в форме кровяных цилиндров, частью выщелоченные, частью сохранившиеся.



Рис. 141. Гиалиновые цилиндры с наложениями лейкоцитов и клеток почечного эпителия.

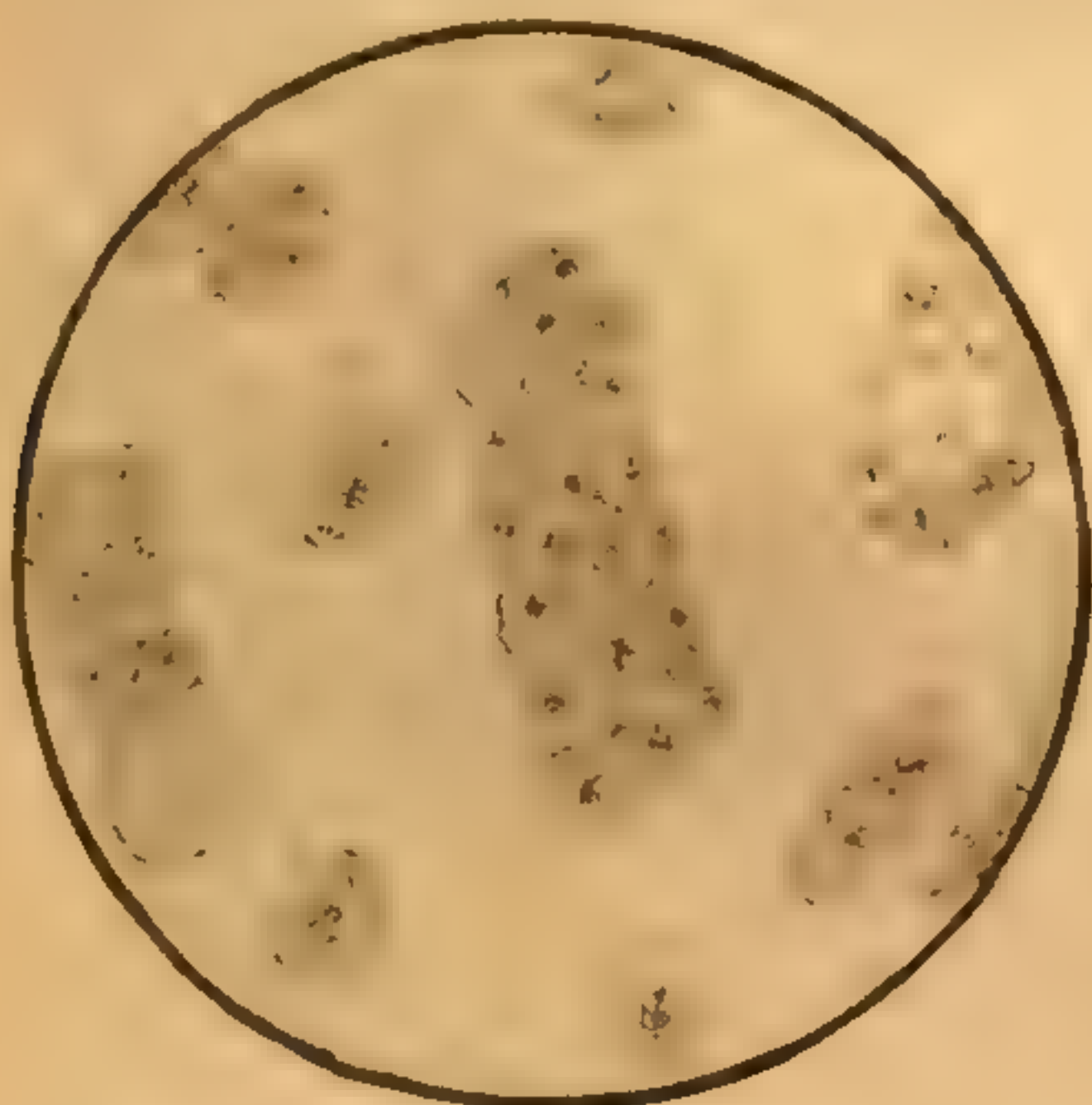


Рис. 142. Эпителиальные цилиндры. Слева—гиалиновый с наложением из клеток почечного эпителия.



Рис. 143. Зернистые цилиндры с крупной и мелкой зернистостью.

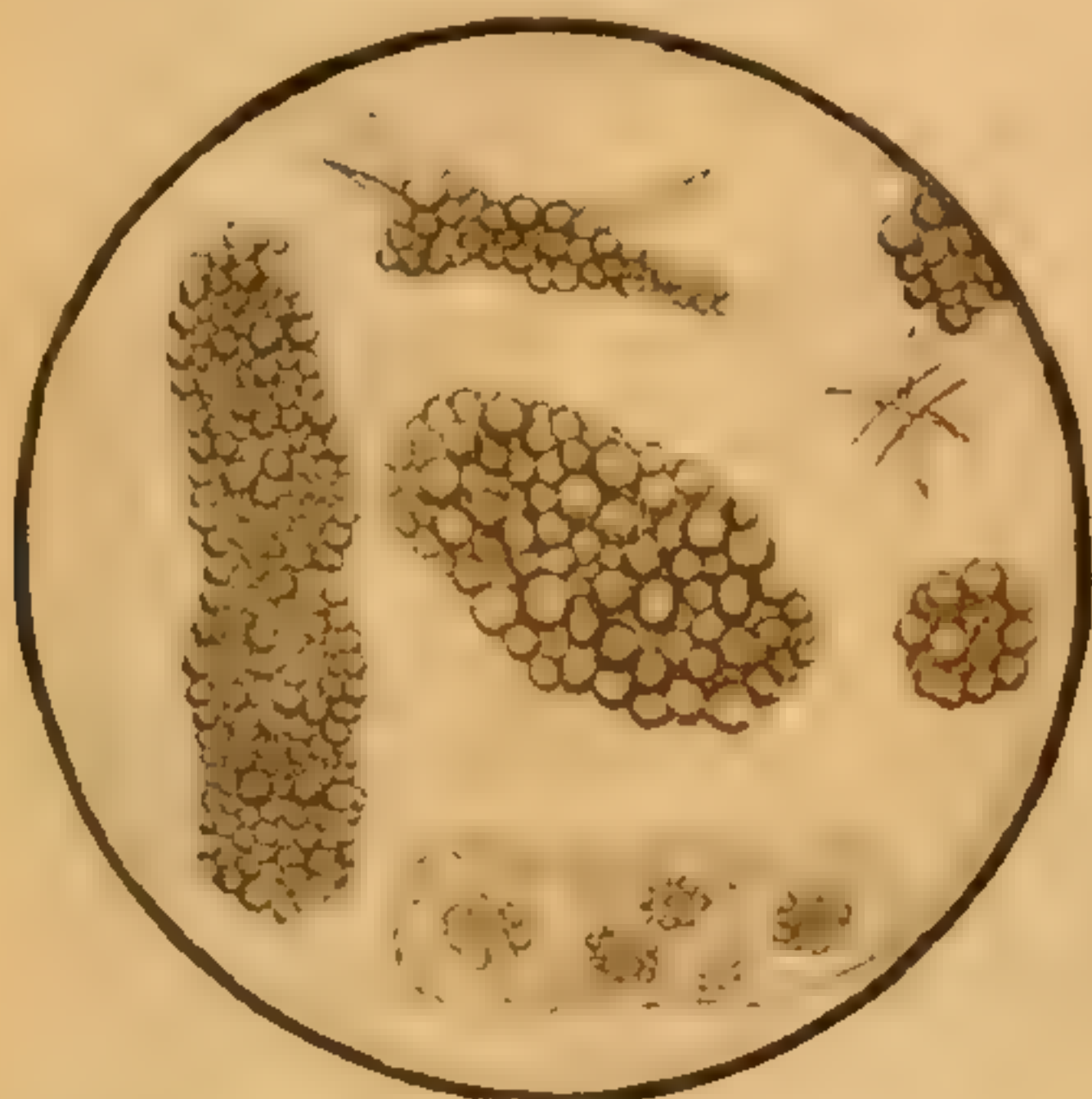


Рис. 144. Жировые цилиндры.



Рис. 145. Жир после обработки суданом III. В красный цвет окрашены свободные жировые капли и свободно лежащие жирно перерожденные клетки.





Рис. 146. Восковидные цилиндры.

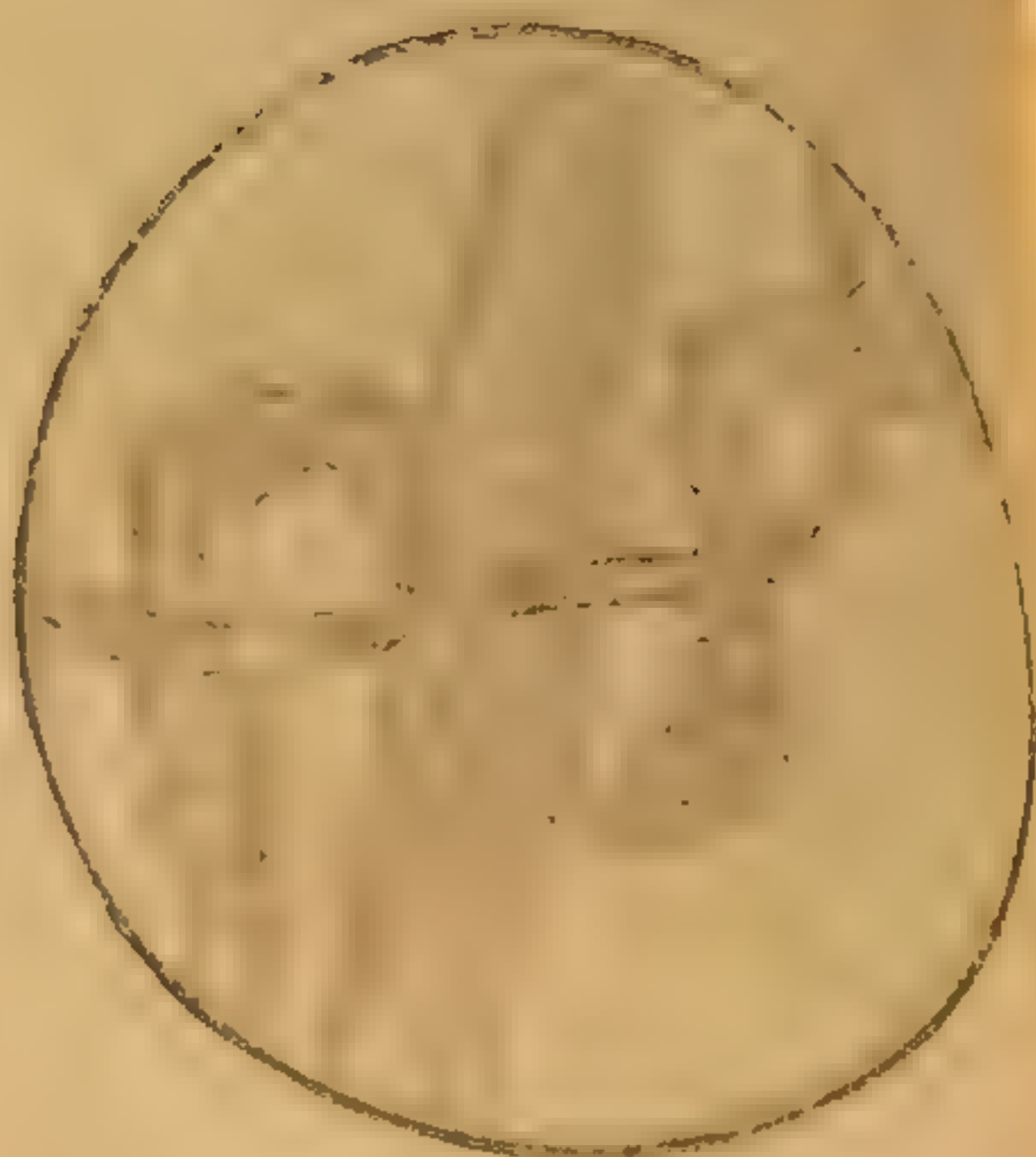


Рис. 147. Цилиндрониды.



Рис. 148. Ложные цилиндры.

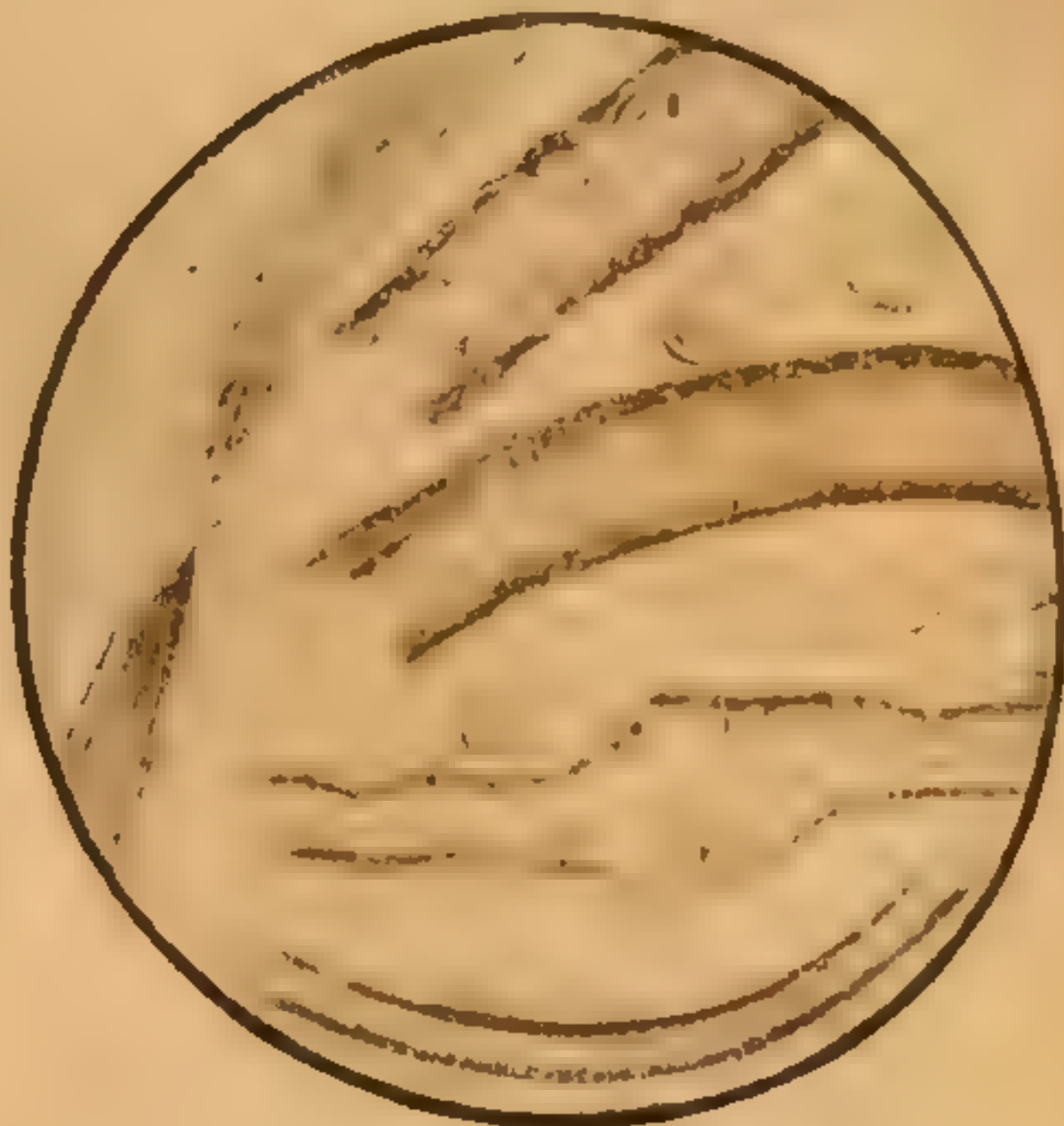


Рис. 149. Загрязнение мочевых осадков (бумага, шерсть, волосы, льняное волокно, шелк, жир, крахмал).

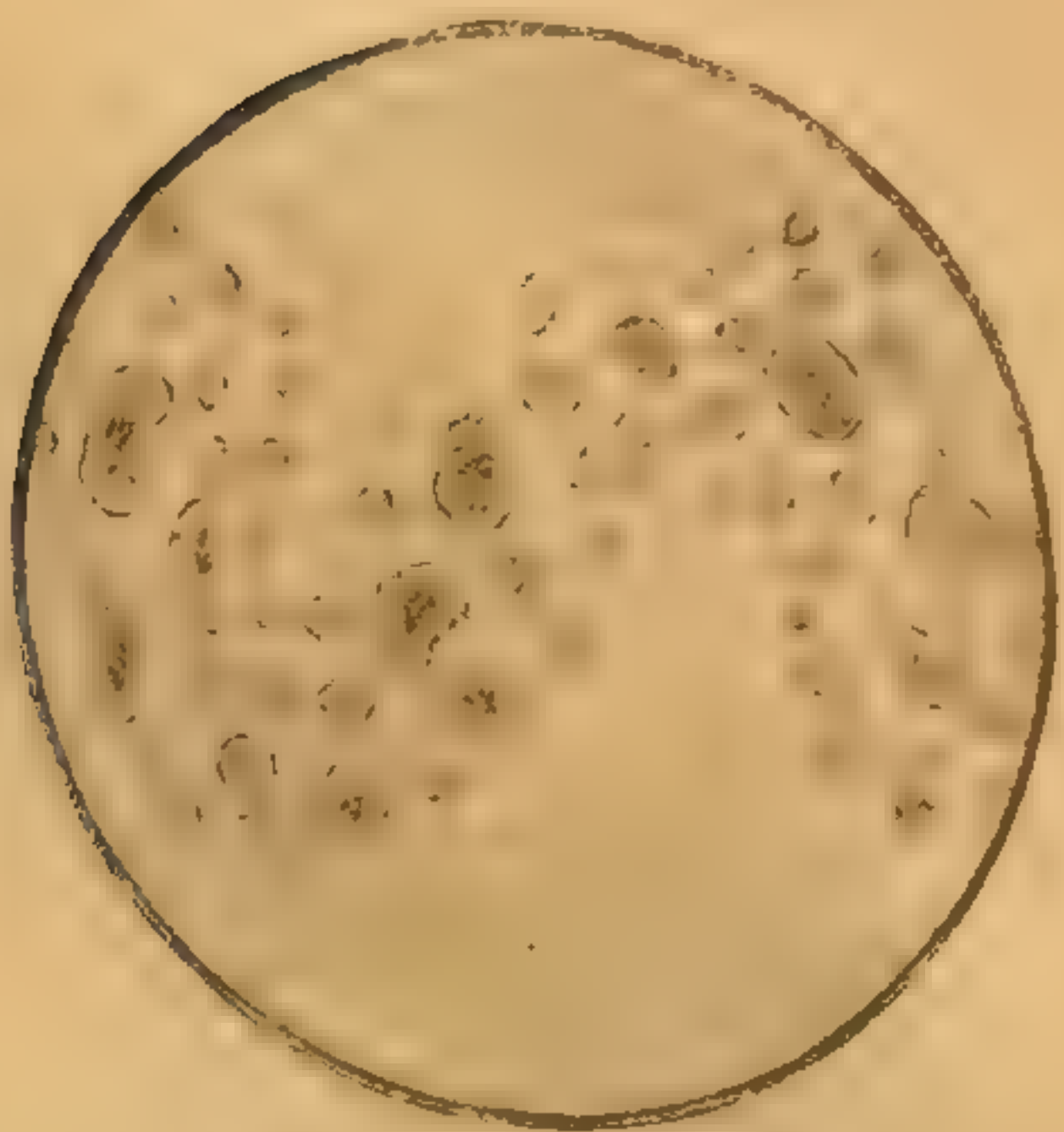


Рис. 150. Уретральные нити.

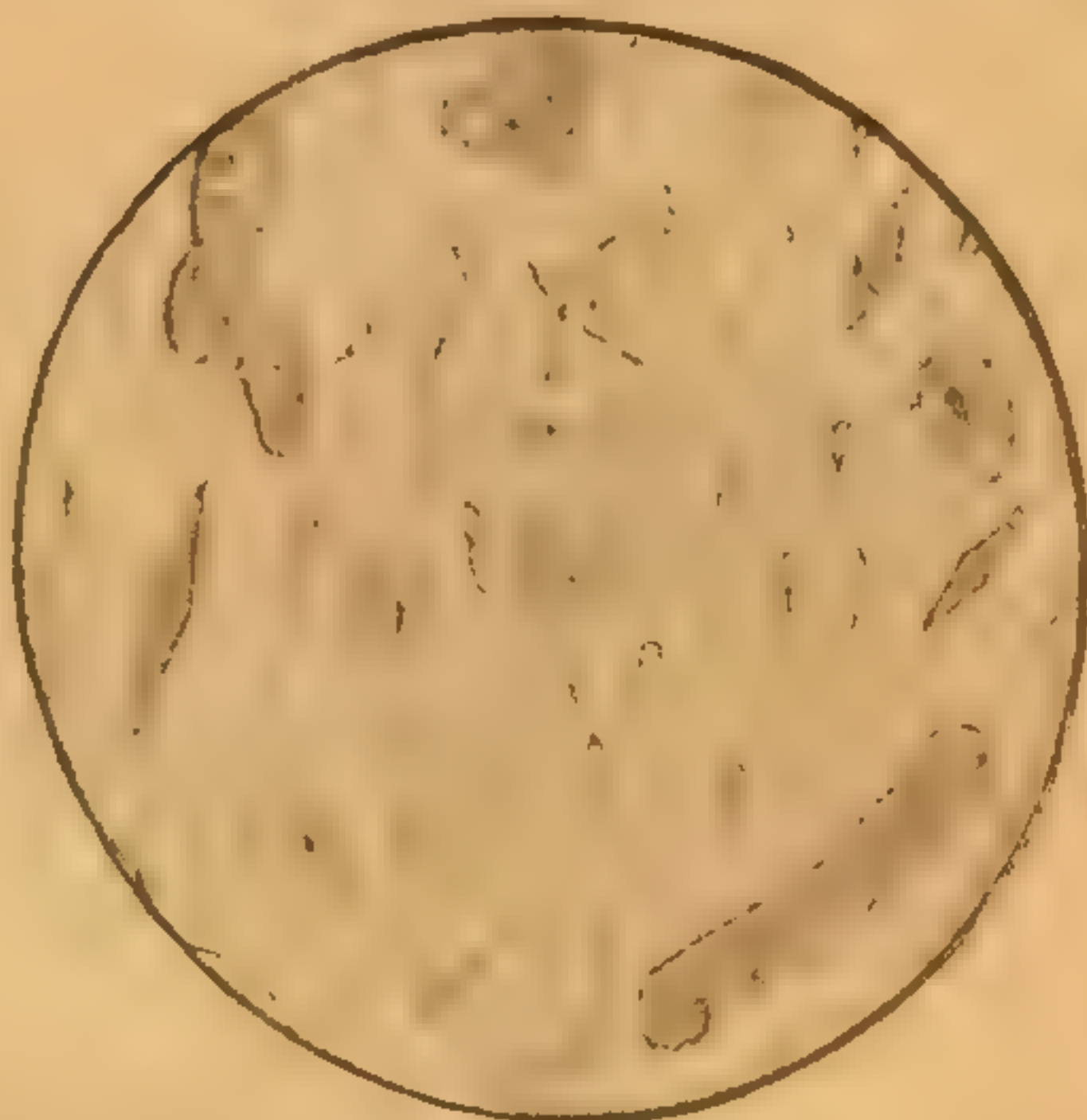


Рис. 151. Сперматозоиды, яичниковые цилиндры, амилоидные тельца (слоистые), плоский эпителий.

формалина; полученную  
зуются для одновремен  
на воздухе препарат по  
испарения спирта чаще  
промывают его водой  
жильного сохранени  
лаком.

Выделение жира  
в особенно большом  
рин, обусловленной при  
laria sanguinis homin  
мало изученных при  
жир; при продолж  
следовании мочи на  
не представляет ли  
нечистоты посуды,  
При заболелав

нениями эпителия  
чительном количе  
в форменных элем  
ровые вещества м  
так называемом л  
преломляющих в  
и сыворотка так  
стерином). Особ  
сифилитическом  
тых игл, собра  
реакцией на ни  
кристаллы встр

д) Холес  
обыкновенно с  
чается при эх  
стерина имею  
углами и ст  
реакция на н

е) Бил  
бина встреч  
том, все же  
сильной же  
рой атрофи  
преимущес

Крист  
в пучки,  
цвета. О  
Гмелина.  
ментах м  
же они

Гем  
химичес  
гематой  
красно  
соверш  
а гема



формалина; полученную смесь судан-формалина фильтруют и ею пользуются для одновременной фиксации и окраски препаратов. Высушенный на воздухе препарат помещают в краску на 10 — 15 минут (во избежание испарения спирта чашечку с краской и препаратом прикрывают), потом промывают его водой и исследуют в капле глицерина; для более продолжительного сохранения края покровного стеклышка замазывают дамар-лаком.

Выделение жира с мочой наблюдается при различных болезнях, в особенно большом количестве при так называемой тропической хилурии, обусловленной присутствием глистов *Schistosoma haematobium* и *Filaria sanguinis hominis*, и европейской хилурии, развивающейся от еще мало изученных причин. При этой болезни моча имеет вид разбавленного молока; при продолжительном стоянии она выделяет сверху ясный слой жира; при взбалтывании с эфиром может быть просветлена. Но при исследовании мочи на жир прежде всего нужно обратить внимание на то, не представляет ли этот жир лишь случайной примеси, происшедшей от нечистоты посуды, катетера и т. д.

При заболеваниях почек, сопровождающихся дегенеративными изменениями эпителия канальцев (нефрозы), в моче также появляются в значительном количестве жировые вещества, которые частью заключены в форменных элементах, частью встречаются в свободном виде. Эти жировые вещества могут быть как изотропными, так и анизотропными. При так называемом липоидном нефрозе количество жира (особенно двоякопреломляющих веществ) бывает иногда очень значительным, причем и сыворотка таких больных очень богата липоидными веществами (холестерином). Особенно много в моче двоякопреломляющих липоидов при сифилитическом нефрозе. Кристаллы жирных кислот имеют вид изогнутых игл, собранных в пучки и звездообразные фигуры. Химической реакцией на них служит растворимость в эфире и хлороформе. Жировые кристаллы встречаются в моче настолько же редко, как и жир.

д) Холестерин (рис. 131) очень редко встречается в моче; он обыкновенно сопровождает жир при жировом перерождении почек, встречается при эхинококке мочевых путей и при хилурии. Кристаллы холестерина имеют вид тонких бесцветных ромбических табличек с обрезанными углами и ступенеобразными уступами. Характерная микроскопическая реакция на них была описана выше (см. «Мокрота»).

е) Билирубин и гематоидин (рис. 132). Кристаллы билирубина встречаются в моче редко, но в моче, богатой желчным пигментом, все же гораздо чаще, чем допускали раньше. Они наблюдаются при сильной желтухе — катарральной, а также вызванной раком печени, острой атрофией ее; далее, при инфекционных болезнях, при отравлениях, преимущественно фосфорных.

Кристаллы билирубина представляют тонкие иглы, часто собранные в пучки, реже — ромбические таблички от желтого до рубиновокрасного цвета. Они легко растворяются в хлороформе и щелочах и дают реакцию Гmeliна. Иглы и пучки игл обыкновенно отлагаются на клеточных элементах мочевого осадка — на лейкоцитах и эпителиальных клетках, иногда же они лежат изолированно.

Гематоидин — производное кровяного пигмента. И по форме, и по химическим реакциям он сходен с билирубином, но все же кристаллы гематоидина обычно можно отличить от кристаллов билирубина по их красноватой окраске. Кроме того, гематоидин встречается в моче при совершенно иных условиях: билирубин встречается в желтушной моче, а гематоидин — при хронических кровотечениях на протяжении мочевого



водящего тракта, в особенности если кровь в каком-либо месте долго задерживается.

ж) Индиго (рис. 133) образуется из индикана — продукта гниения белковых веществ в кишечнике. Как вполне готовое образование он выделяется с мочой лишь при очень немногих патологических состояниях, например, цистите, абсцессах печени, гипертрофическом циррозе печени. В большинстве же случаев он образуется в богатой индиканом моче при стоянии ее на воздухе — при гниении ее, причем находящийся в растворенном виде индикан окисляется кислородом воздуха и превращается в синий индиго. Последний имеет форму синих глыбок, тонких синих игл и синих ромбических кристаллов, большей частью образующих щетки и легко растворяющихся в хлороформе, окрашивая его в синий цвет.

з) Кристаллы фенилглюкоза (рис. 134) обратили на себя внимание врачей с тех пор, как Якшем была предложена весьма чувствительная и в то же время очень простая реакция для доказательства присутствия виноградного сахара в моче — это реакция с фенилгидразином, которая описана среди других способов определения сахара (ст. 318).

и) Меланин может появляться в моче при меланотических опухолях в виде мелких аморфных зернышек (обычно же он растворен в моче).

#### 4) Обзор главнейших химических свойств неорганизованных осадков.

I. При нагревании легко растворяются — ураты.

II. При нагревании трудно или вовсе нерастворимы (осадок становится даже обильнее):

Фосфаты — без образования газа	}	Растворимы в уксусной кислоте
Углекислая известь — с образованием газа		
Мочекислый аммоний — с образованием через 10—15 минут кристаллов мочевой кислоты		
Щавелевокислый кальций — растворим в концентрированной HCl	}	Нерастворимы в уксусной кислоте
Лейцин, тирозин, ксантин, цистин — растворимы в HCl и NH <sub>4</sub> OH		
Мочевая кислота		
Сернокислая известь	}	Нерастворимы в HCl
Растворяется в едком кали — мочевая кислота.		

#### Организованные осадки мочи

Организованные осадки отличаются от неорганизованных своей нерастворимостью при нагревании в уксусной кислоте и HCl. Обладая сравнительно низким удельным весом, они значительно медленнее оседают на дно сосуда, и моча долго остается мутной. Легче всего оседают эритроциты, а бактерии совершенно не оседают.

1) Клеточные элементы. а) Эпителиальные клетки присоединяются к моче во время прохождения ее по мочевыводящим путям — мочевым канальцам, почечным лоханкам, мочеточникам, мочевому пузырю и мочеиспускательному каналу. Весь мочевой тракт выстлан многослойным эпителием, за исключением мочеиспускательного канала и мочевых канальцев, которые выстланы однослойным цилиндрическим эпителием. Все эти формы клеток можно встретить в мочевом осадке или в неизменном виде, или же так или иначе измененными под влиянием различного состава мочи.



В нормальной моче почти всегда встречается только плоский эпителий в виде больших многоугольных, реже кругловатых клеток с одним сравнительно маленьким ядром и светлой мелкозернистой протоплазмой. Клетки эти часто собираются в форме бляшек и чешуек, нередко наложенных одна на другую (рис. 135). Они попадают в мочу из отверстия мочеиспускательного канала, с крайней плоти, а у женщины — из влагалища. В моче женщин вообще всегда значительно больше этого эпителия, чем у мужчин, так что уже по обилию эпителиальных клеток можно почти с уверенностью определить, что моча взята от женщины.

При патологических состояниях, при так называемых катаррах мочевых путей, количество эпителиальных клеток из мочевыводящих путей может быть очень большим, причем по форме и величине они обыкновенно представляют весьма большое разнообразие.

Можно ли по форме эпителиальных клеток определить место их слущивания?

Ввиду того что разница в характере эпителия существует только между мочевыми канальцами и всем остальным трактом, точный дифференциальный диагноз можно было бы ставить лишь между поражением почек и поражением всего остального мочевыводящего пути. Однако клетки мочевых канальцев и клетки из более глубоких слоев мочевого пузыря или из лоханок (рис. 136) могут иметь точно такую же форму, так что распознать клетку почечного эпителия как таковую можно только тогда, когда в осадке имеются также зернистые или эпителиальные цилиндры; решает вопрос именно присутствие цилиндров. Что же касается отличительного распознавания между эпителием почечных лоханок, мочеточников и мочевого пузыря, то оно представляет весьма трудную, а в иных случаях даже неразрешимую задачу. Тип эпителиальных клеток всех этих частей один и тот же. Поверхностный слой состоит из больших многоугольных или эллиптических клеток с одним кругловатым ядром и зернистой протоплазмой; эпителий среднего и более глубоких слоев имеет овальную, часто даже неправильную коническую форму с одним или двумя протоплазматическими отростками, с одним большим ядром и также ясно зернистой протоплазмой (рис. 137).

Некоторые авторы до сих пор придают большое значение так называемым «хвостатым клеткам», полагая, что они происходят из почечных лоханок и, следовательно, указывают на поражение этой части мочевых путей. Но с несомненностью известно, что эпителий глубоких слоев мочевого пузыря также снабжен одним или двумя отростками, а с другой стороны, эпителий почечных лоханок далеко не всегда имеет типичную форму сравнительно мелких клеток с одним или двумя хвостами. Нередко из почечных лоханок слущиваются мелкие круглые или овальные клетки с крупным ядром. Поэтому на основании одних хвостатых клеток не следует ставить диагноза пиелита.

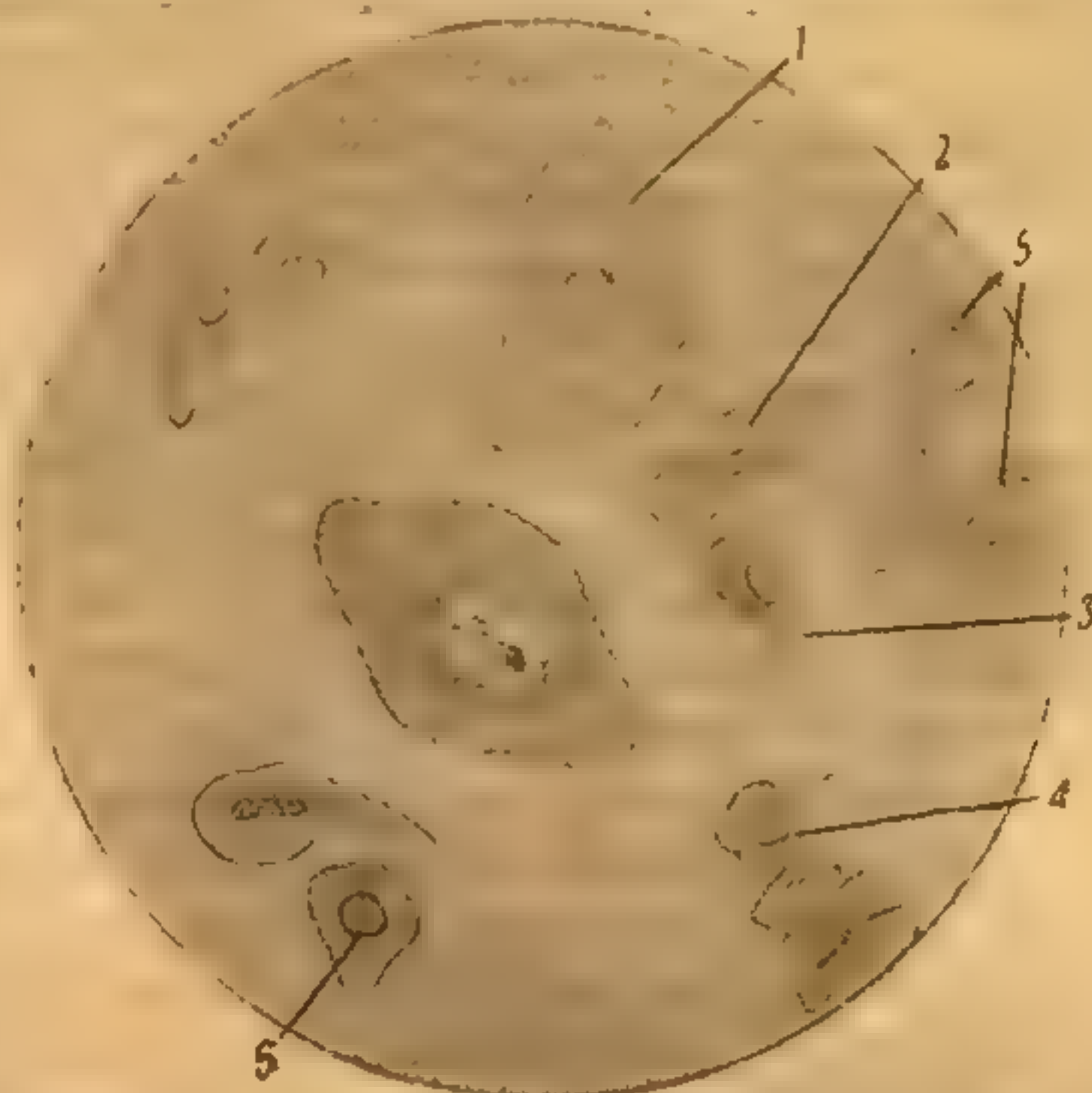


Рис. 137. 1 — плоский эпителий; 2 — цилиндрический эпителий из мочеточника; 3 — эпителий из мочевого пузыря; 4 — эпителий из шейки мочевого пузыря; 5 — эпителий из почечной лоханки; 6 — эпителий из почки.



б) Эпителий мочевых канальцев, или, короче, почечный эпителий (рис. 138), отличается от эпителия нижележащих мочевых путей меньшим размером; по величине он немного больше лейкоцитов. Надо, однако, помнить, что, в зависимости от степени концентрации мочи, как клетки почечного эпителия, так и лейкоциты могут либо разбухать, либо сморщиваться, следовательно, нельзя руководствоваться только их размером. Форма почечных клеток — многоугольная или круглая, протоплазма зернистая, часто окрашена в буроватый цвет; ядро по отношению к размеру всей клетки крупное. Весьма часто клетки почечного эпителия содержат в себе жировые капли или блестящие плотные глыбки, в иных же случаях имеется образование из жировых капель с контурами клеток, — это уже вполне перерожденный эпителий, в котором ядро исчезло, а протоплазма превратилась в жировые капельки.

Иногда невозможно с уверенностью отличить почечный эпителий от разбухших белых кровяных шариков; резкие контуры и характерное ядро клеток почечного эпителия должны служить точкой опоры для дифференциального распознавания.

Из мужской уретры иногда выделяются клетки, весьма похожие на клетки почечного эпителия, так что легко смешать одни с другими. Правда, уретральные клетки имеют более круглую форму, но и почечный эпителий при продолжительном стоянии мочи может набухнуть и принять более или менее круглую форму. Но есть и существенная разница: почечный эпителий встречается всегда в белковой моче, и почти всегда в этой же моче имеются и цилиндры; уретральный же эпителий обыкновенно входит в состав так называемых трипперных нитей. Таким образом, и почечный эпителий можно с уверенностью распознать только по всей совокупности микроскопической картины, а иногда и данных химического исследования мочи и даже всего клинического симптомо-комплекса.

Были описаны клетки типа сердечных пороков в моче, которые образуются при тех же условиях, как и в легких, т. е. при застое почек: в почечном эпителии заключен желто-красноватый пигмент, дающий реакцию на железо (берлинская лазурь) (см. ст. 282).

К клеткам почечного эпителия, повидимому, относятся и так называемые висмутовые клетки, встречающиеся иногда в моче больных при лечении препаратами висмута. В некоторых случаях они выделяются в таком большом количестве, что покрывают все поле зрения. Эти клетки отличаются присутствием своеобразных сильно преломляющих свет включений. Для распознавания этих клеток можно пользоваться микроскопическими реакциями: 1) сероводородная вода (к осадку прибавляют 1 каплю крепкой свежеприготовленной сероводородной воды) окрашивает эти включения в буроватокоричневый цвет; 2) при прибавлении 1 капли 30—35% водного раствора иодистого калия и уксусной кислоты получается желто-зеленая окраска; 3) высушенный и фиксированный на предметном стекле осадок окрашивают метиленблау-эозином (4 части насыщенного водного раствора метиленовой синьки, 2 части 0,5% спиртного раствора эозина и 2 части глицерина) — протоплазма окрашивается в сине-фиолетовый цвет, а включения — в розовый, ядро почти не окрашивается.

в) Лейкоциты (рис. 139) встречаются в моче в виде небольших зернистых шариков, обыкновенно правильной круглой формы; иногда они набухают, особенно в щелочной моче, и тогда кажутся стекловидными, однородными; в иных же случаях они жирно перерождаются и тогда, наоборот, кажутся крупнозернистыми; нередко они находятся в состоянии распада.



Лейкоциты по внешнему виду можно смешать с клетками почечного эпителия, но отличие, помимо указанного выше, заключается еще в отношении их к люголевскому раствору, который лейкоциты окрашивают в бурый цвет (гликоген), а эпителиальные клетки — в слабожелтый.

Единичные лейкоциты встречаются и в нормальной моче; в 12-часовой ночной порции концентрированной мочи можно насчитать в камере даже несколько сот тысяч лейкоцитов. Если же их много (пиурия), то это, несомненно, указывает на патологическое состояние мочевых путей или почек (конечно, у женщин необходимо прежде всего исключить возможность примеси к моче белей; в случае надобности мочу берут катетером). Гной может выделяться из почек, почечных лоханок, мочеточников, мочевого пузыря, мочеиспускательного канала и из гнойника, прорвавшегося в мочевые пути из соседних органов.

Для определения места происхождения пиурии надо прежде всего обратить внимание на внешний вид мочевого осадка. Громадный гнойный осадок чаще всего бывает при катарре мочевого пузыря; при этом осадок тягучий, вязкий; моча имеет резко щелочную реакцию (за исключением циститов туберкулезного происхождения и вызванных кишечной или тифозной палочкой) и содержит аморфные фосфаты, трипельфосфат, большое количество микробов; лейкоциты оказываются совершенно перерожденными и нередко совершенно неразличимы как отдельные клетки. Много гноя может быть также из почечных лоханок, но тогда осадок рыхлый, хлопчатый и моча чаще имеет кислую реакцию. Если при этом под микроскопом находят много клеток, в частности, мелкие овальные и хвостатые клетки, особенно расположенные скоплениями в виде черепиц и смешанные с лейкоцитами, то это, несомненно, указывает на воспаление почечных лоханок. При уретрите иногда также выделяется большое количество гноя, но тогда гной легко выдавливается из уретры, чем и определяется точное распознавание («Уретральные нити»). При поражениях почек лейкоцитов обычно меньше, чем при этих заболеваниях, исключая гнойник в почке и туберкулез. При туберкулезе почек осадок иногда содержит также кровь; окончательно диагноз ставится путем нахождения в осадке туберкулезных палочек (см. стр. 399 и отд. X).

Большое значение для определения почечного происхождения лейкоцитов имеет выяснение вопроса, содержит ли моча также растворенный белок, наряду с тем белком, наличие которого обуславливается самим присутствием лейкоцитов. Решить этот вопрос можно только, сопоставив, хотя бы грубо, количество белка и количество лейкоцитов: если лейкоцитов много, а белка мало, последний, несомненно, соответствует клеткам; если же лейкоцитов мало, а белка много, последний, очевидно, зависит также от каких-то других причин, помимо гноя.

Указанные соотношения можно выразить в числах. Для этого берут каплю мочи из хорошо размешанного суточного количества ее и определяют число лейкоцитов в  $1\text{ мм}^3$  путем подсчета в камере для счета крови (см. «Кровь»). Исследования показали, что при умеренном катаре мочевого пузыря в  $1\text{ мм}^3$  мочи содержится 20 000—40 000, при тяжелом — до 100 000 лейкоцитов. При 100 000 клеток в  $1\text{ мм}^3$  содержание белка в моче составляет не более  $1\text{‰}$ . Если же белка содержится более  $1\text{‰}$  на 100 000, более  $0,5\text{‰}$  на 50 000 и более  $0,25\text{‰}$  на 15 000—20 000, то приходится предположить существование почечной альбуминурии.

Счисление лейкоцитов мочи в камере затруднительно, поэтому Познер предложил пользоваться другим способом. Плоскодонный бокальчик с делениями ставят на бумагу, на которой напечатаны хорошим шрифтом



буквы, и определяют, при скольких сантиметрах высоты налитой мочи можно еще различать буквы. В норме эта высота равна 8 см. Познер вычислил, что при прозрачности в 0,5—1 см количество лейкоцитов равно 40 000, а при 6 см — 1 000. Но так как количество лейкоцитов не просто обратно пропорционально высоте слоя мочи, а имеется довольно сложное соотношение, то было предложено мочу с большим содержанием лейкоцитов разводить до тех пор, пока чтение сделается возможным при высоте слоя в 6 см, т. е. при 1 000 лейкоцитов. Путем умножения 1 000 на степень разведения получается искомое количество лейкоцитов.

Более детальное изучение лейкоцитов показывает, что при хронических процессах в почках среди лейкоцитов преобладают полиморфно-ядерные, тогда как при острых процессах наблюдается обратное соотношение: если полиморфноядерных клеток содержится менее  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}$  всего количества лейкоцитов, то это говорит против хронического характера процесса.

О химическом способе распознавания гноя см. «Прозрачность мочи».

г) Эритроциты по размеру (рис. 140) меньше лейкоцитов; они имеют вид довольно правильных дисков, слабо окрашенных в желтый цвет, без ядра; видимые сбоку, они имеют форму бисквита. В некоторых случаях края их бывают неровные, зазубренные, наподобие тутовых ягод (в кислой концентрированной моче); в других случаях, наоборот, они разбухают, теряют центральное углубление и становятся резко очерченными (в щелочной моче); иногда их почти невозможно отличить от лимфоцитов. Нередко они совсем теряют красящее вещество и тогда представляются в виде бледных колец — «тени эритроцитов»; это в большинстве случаев является признаком почечного происхождения крови.

Прежде всего необходимо исключить все ложные гематурии — примесь крови в моче не из мочевыводящих путей. Такая примесь встречается у мужчин (воспаление, туберкулез, новообразование предстательной железы), но значительно чаще у женщин, вследствие выделения крови из гениталий. Единичные эритроциты очень часто встречаются после, реже — до менструации.

Если действительно имеется гематурия, то прежде всего необходимо выяснить, выделяется ли кровь почками или на другом участке на протяжении мочевыводящих путей. Если кровь выделяется и помимо мочеиспускания, то она уретрального происхождения, так же как и кровь, которая выделяется только в начале мочеиспускания — при трехстаканной пробе в первом стакане. Если кровь содержится в первом и третьем стакане, то она происходит из *pars prostatica*. Кровотечение из мочевого пузыря обычно сопровождается и другими пузырьными симптомами; при трехстаканной пробе сильнее всего окрашена последняя порция, иногда даже последние капли. При кровотечении из почек моча во всех 3 стаканах содержит одинаковую примесь крови; иногда, впрочем, моча в третьем стакане окрашена сильнее. При диффузном кровотечении (острый геморрагический нефрит) моча окрашена равномерно, не содержит сгустков, цвет ее обычно не яркокрасный, а буроватый, в падающем свете — зеленовато-опалесцирующий. Часто происходит гемолиз эритроцитов, так что они имеют вид пустых колец («тени эритроцитов» — см. выше); в этих случаях моча содержит свободный гемоглобин, образующий зернистый осадок; наличие такого зернистого осадка в форме цилиндров, равно как и присутствие цилиндров, состоящих из склеенных между собой эритроцитов, выясняет гломерулярный характер кровотечения. При обратном развитии острого нефрита часто находят цилиндры с наложениями из



кучек эритроцитов и отдельные кучки эритроцитов, обычно гемолизированных. Способствует правильному диагнозу определение соотношения между количеством эритроцитов и количеством белка: если при малом количестве эритроцитов выделяется много белка, то имеется нефритическая гематурия. Если на 30 000 эритроцитов имеется более 1<sup>0</sup>/<sub>00</sub> белка, то можно диагностировать почечную альбуминурию.

Если крови очень много, так что моча окрашена равномерно в более густой цвет, чем цвет мясных помоев, то возникает подозрение на очаговое кровотечение в почках или лоханках.

При очаговом кровотечении из почек, лоханок или мочеточника наблюдаются также сгустки. Крупные сгустки — пузырного, мелкие — иногда лоханочного происхождения. Последнее предположение подтверждается, если больной отмечал коликообразные боли (при прохождении сгустков при мочеиспускании). Кровотечение из мочеточников в редких случаях дает тонкие свертки длиной не менее 10 см; более толстые и короткие — 8 см — уретрального происхождения; первые появляются во время или в конце мочеиспускания, вторые — в начале его или независимо от него.

Появление в осадке эритроцитов, несомненно, почечного происхождения, однако еще не всегда означает воспалительный процесс в почках. Эритроурия может быть вызвана застойными явлениями; микроскопическая эритроурия в старческом возрасте вызывается склеротическими изменениями сосудов.

Наконец, гематурия встречается нередко после физического напряжения, так же как альбуминурия.

Небольшое количество эритроцитов можно обнаружить и в совершенно нормальной моче — около 40<sup>0</sup>/<sub>0</sub> людей с нормальными почками выделяют с мочой эритроциты. При подсчете форменных элементов мочи в камере (стр. 376) удастся насчитать в 12-часовой ночной порции мочи в среднем 65 000 эритроцитов (максимально до 425 000), по некоторым авторам, — даже 130 000 (максимально 1 000 000) эритроцитов.

Если моча содержит менее 12—15 эритроцитов в поле зрения, то бензидиновая реакция на кровь остается отрицательной.

**2) Истинные цилиндры.** Цилиндры — продолговатые образования своеобразной цилиндрической формы. Их число, форма, а также диагностическое значение весьма разнообразны. Встречаются они большей частью в белковой моче, реже в безбелковой; однако нет никакого соответствия между количеством белка и количеством цилиндров. Это объясняется тем, что белок, который, по всей вероятности, составляет основу цилиндров, не во всякой моче находит условия, благоприятствующие свертыванию и осаждению. Одним из условий свертывания является кислая реакция. При резкокислой реакции мочи нередко почти или вовсе нет растворенного белка и вместе с тем весьма много цилиндров. Весьма возможно, что в образовании цилиндров принимают участие осаждающие белок вещества, содержащиеся в моче (см. «Уксуснобелковое тело»), и что почти постоянное присутствие гиалиновых цилиндров в моче при желтухе объясняется действием желчных кислот.

В щелочной моче цилиндры, наоборот, образуются редко. Далее большую роль играют поверхностное натяжение мочи и концентрация коллоидов, в том числе и самого белка. Цилиндрuria после острого нефрита часто держится дольше, чем альбуминурия; в это же время в большом количестве появляются цилиндрониды. Наличие цилиндров без альбуминурии часто наблюдается также после физического напряжения.



Свертывание белка, приводящее к образованию цилиндра, — обратимый процесс. Это имеет практическое значение, поскольку растворение цилиндров происходит при стоянии мочи, особенно щелочной.

Отличают истинные и ложные цилиндры. К истинным цилиндрам относятся: а) гиалиновые цилиндры; б) зернистые и эпителиальные цилиндры, а также жировые цилиндры; в) гемоглобиновые цилиндры; г) восковидные цилиндры; д) цилиндрониды.

а) Гиалиновые цилиндры (рис. 141) — чрезвычайно нежные, бледные, прозрачные образования, так что даже опытный глаз иногда не сразу находит их под микроскопом; начинающим рекомендуется для отыскания их подкрашивать мочевой осадок красками: метиленовой синькой, генцианвиолетом, эозином, разведенной иодной настойкой и т. п.

Длина гиалиновых цилиндров обычно от 0,1—0,3 до (редко) 1—2 мм, ширина 10—50  $\mu$ ; особенно широкие цилиндры образуются при закупорке почечных канальцев (см. «Восковидные цилиндры»); они прямые или же слегка изогнуты, иногда штопорообразно извиты. На их поверхности часто откладываются соли и другие мелкие частицы, вследствие чего их трудно отличить от зернистых; распознать их, однако, весьма важно, так как диагностическое значение их совершенно иное, чем зернистых. Обычно помогает то, что между наложениями остаются все же прозрачные участки, позволяющие рассмотреть гиалиновую основу.

Значение патологического симптома гиалиновые цилиндры приобретают только когда их много, когда они встречаются постоянно, отличаются значительной шириной; решающее значение имеет нахождение на них наложений в виде эритроцитов или почечных клеток, которые, конечно, сохраняют свое патологическое значение, и изучение всего осадка в целом. Несомненно, что гиалиновые цилиндры образуются в почках, но не всегда указывают на патологический процесс в них; они встречаются при всякой альбуминурии: при лихорадочной, застойной, желтушной, а также при ортостатической альбуминурии, при альбуминурии после купанья, спорта и пр. Возможно, образование их связано с кислотностью выделяемой мочи. Единичные экземпляры иногда обнаруживаются даже без какой-либо видимой причины, особенно при пользовании современными электрическими центрифугами и при тех специальных предосторожностях, какие описаны для подсчета форменных элементов мочи в камере. При этих условиях приблизительно в 25% случаев можно насчитать в 12-часовой ночной порции нормальной мочи до 4000 гиалиновых цилиндров. Без этих предосторожностей найти гиалиновые цилиндры значительно труднее.

б) Эпителиальные и зернистые цилиндры (рис. 142). Зернистые цилиндры имеют приблизительно такие же размеры, как и гиалиновые. Они не прозрачны и густо покрыты зернышками разного размера. В этих зернах часто содержатся преломляющие свет жировые капли. Иногда количество последних настолько велико, что цилиндры имеют вид жировых (рис. 143). Жир можно обнаружить при обработке осмиевой кислотой или суданом (рис. 144 и 145). Они, несомненно, представляют собой клеточный детрит, и цилиндр в целом можно рассматривать как отторгнутый дегенеративный эпителиальный покров. Поэтому зернистые цилиндры представляют по существу те же эпителиальные цилиндры; в последних дегенерация еще не достигла такой степени, как в зернистых. Нередко можно видеть все степени перехода: зернистый цилиндр, в котором местами можно рассмотреть клеточные ядра. Эпителиальный цилиндр иногда сохраняет еще просвет и является частицей



эпителиальной трубки; зернистые и эпителиальные цилиндры поэтому являются несомненным признаком тяжелых дегенеративных явлений в области канальцев. В отличие от гиалиновых цилиндров они не встречаются при непораженных почках и не сопровождают собой так называемые физиологические альбуминурии (после физической нагрузки, холодного купанья и т. п.). Отличить зернистый цилиндр от гиалинового не всегда легко (см. выше «Гиалиновые цилиндры»), а иногда даже невозможно, тем более что встречаются смешанные образования, у которых один конец имеет, несомненно, гиалиновый, а другой — зернистый характер. Вопрос разрешается в пользу зернистых цилиндров, если в осадке имеются отдельные или расположенные на гиалиновых цилиндрах клетки почечного эпителия. Трудно также отличить зернистый цилиндр от скопленных в цилиндрическое образование или лежащих на гиалиновом цилиндре дегенерированных лейкоцитов, в особенности если они поглощают много жировых капель. Такие нагруженные жировыми каплями лейкоциты тоже являются признаком дегенеративного процесса. Присутствие свободно лежащих лейкоцитов или явных цилиндров из лейкоцитов облегчает распознавание; вопрос, следовательно, и в этом случае разрешается путем изучения всего осадка в целом.

Нередко в клетках свободно лежат жировые зернышки, в поляризованном свете обладающие двойным преломлением; они встречаются и при острых нефрозах, чаще при липоидной дегенерации, и не имеют особого диагностического значения. Очень большое количество таких элементов подтверждает диагноз липоидного нефроза.

в) Коматозные цилиндры. При диабетической коме, почти как правило, выделяются цилиндры, которые поэтому и носят название коматозных цилиндров. Они большей частью короткие и широкие, реже имеют форму более узких и длинных образований; местами они имеют гиалиновый характер, в большей же части покрыты матовоблестящей зернистой массой и относятся, таким образом, к смешанным цилиндрам. Диагностическое значение ясно из их названия.

г) Восковидные цилиндры — гомогенные образования, более грубые, чем гиалиновые цилиндры, с вырезками по краям, обычно большого размера и широкие (рис. 146). Широкие цилиндры, восковидные и другие, очевидно, образуются в канальцах с особенно широким просветом, расширенных вследствие закупорки цилиндром, или — при хронических процессах — вследствие уплощения эпителия; поэтому такие цилиндры всегда служат признаком расширения канальцев.

Восковидные цилиндры встречаются только при тяжелых почечных процессах, реже при острых, чаще при хронических.

д) Гемоглобиновые цилиндры — цилиндрические образования желто-коричневого или бурого цвета, мелкозернистые, похожие на зернистые цилиндры. Они образуются из свернувшегося гемоглобина, который при этом может встречаться и свободно в осадке в виде зернистого коричневого детрита. Иногда на них весьма похожи цилиндрические образования, состоящие из кислого мочекислого натрия. Эти образования, так же как и мочекислые соли, покрывающие гиалиновые цилиндры, растворяются, вообще, при нагревании и прибавлении щелочи.

Гемоглобиновые цилиндры часто встречаются при остром геморрагическом нефрите.

е) Цилиндрониды по степени прозрачности напоминают гиалиновые цилиндры, но обычно длиннее, менее ясно очерчены, часто разветвляются (рис. 147). Нередко они тоже покрыты уратами. Они часто встречаются в конце нефритического процесса.



ж) Цилиндры из красных кровяных клеток также бывают двух видов: одни — сплошные, состоят из одних красных шариков; в других отдельные красные шарики только наложены на гиалиновых или зернистых цилиндрах, часто рядом с другими форменными элементами: почечным эпителием, гнойными шариками и т. п. Заключенные в цилиндрах красные кровяные шарики либо представляются хорошо сохранившимися, либо бывают выщелочены и обесцвечены, образуя уже описанные кровяные тени.

3) Ложные цилиндры. В моче встречаются также образования органического и неорганического происхождения, которые имеют только поверхностное сходство с настоящими цилиндрами и поэтому могут быть названы ложными цилиндрами (рис. 148), некоторые из них не стоят ни в какой связи с заболеванием почек. Сюда относятся:

а) Цилиндры из белых кровяных клеток; встречаются сравнительно редко, обыкновенно при гнойном нефрите, причем гнойные шарики или склеиваются в цилиндрические конгломераты слизи, или же отлагаются на гиалиновых цилиндрах.

б) Цилиндры из уратов; очень похожи на зернистые цилиндры, но отличаются тем, что растворяются при подогревании и прибавлении едкого кали (см. «Мочекислые соли»); встречаются нередко в очень концентрированной моче.

в) Цилиндры из мочекислого аммония; встречаются в моче трудных детей, страдающих мочекислым инфарктом; они состоят из пигментированных, большей частью гладких шаров мочекислого аммония, легко растворяющихся от прибавления едкого кали, а также от уксусной кислоты; в последнем случае можно наблюдать через некоторое время образование типичных кристаллов мочевой кислоты.

г) Цилиндры из бактерий; так же как и цилиндры из уратов, очень похожи на зернистые цилиндры; но при внимательном рассмотрении ясно видно, что они состоят из совершенно одинаковых часто подвижных палочек или кокков; кроме того, они отличаются способностью хорошо краситься анилиновыми красками и противостоять действию кислот и щелочей.

Бактерийные цилиндры чаще всего наблюдаются при гнойном нефрите — эмболическом, вызванном приемом или другими заразными болезнями. Но бактерии могут также происходить из наружных мочевых путей и там откладываться на готовых уже цилиндрах, например, на гиалиновых.

д) Слизевые цилиндры; очень длинные, бледные, лентовидные образования с весьма характерным раздвоением на одном или обоих концах; состоят из слизи; не следует смешивать их с гиалиновыми цилиндрами и цилиндроидами.

е) Яичковые цилиндры; происходят из отводящих сосудов яичка; как и цилиндроиды, они похожи на гиалиновые цилиндры, только немного шире последних. Часто сходство бывает так велико, что отличить истинный гиалиновый цилиндр от яичкового бывает невозможно; тогда для распознавания принимают во внимание присутствие их лишь в первой порции мочи, наличие сперматозоидов и отсутствие каких бы то ни было указаний на заболевание почек (отсутствие белка в моче). Яичковые цилиндры встречаются в мочевом осадке при сперматоррее.

4) Загрязнения осадка. Описанные выше истинные цилиндры часто можно смешать с другими сходными по форме образованиями, которые, однако, имеют совершенно иное диагностическое значение. Так, цилиндры прежде всего можно смешать с нитками из полотна, шерстью, воло-

сами; но это гру-  
строение только и  
ров; они имеют у  
лей, хлопчатост  
Шелк состо  
ных нитей.  
Шерстяны  
разно расположе  
Волосы (с

родны.  
5) Прочие  
трех родов: 1)  
гоноррее, 2) от  
ческих инсульт  
их лучше все  
10—15 см<sup>3</sup>; ее  
подвергают це  
Уретральны  
или из слизи,  
мешиваются е  
маторрее, част  
Отыскива  
нии вопроса с  
уретрит и, сл  
находят боль  
в утренней п  
путем отыска  
ления мочеи

б) Спе  
по их харак  
состоящие из  
части (шей  
В мочевом  
первых, по  
рых, после  
рее, что ч  
при хрони  
ного истеч  
найти спе  
твердо  
в) Э  
хотя по  
прораста  
в моче м  
конгломе  
ткани.  
При  
ского п  
мочу, т  
особен  
По  
в цент



сами; но это грубая ошибка, которой легко избежать, если помнить строение только что перечисленных случайных загрязнений (рис. 149).

Волокна из льна и пеньки гораздо грубее истинных цилиндров; они имеют утолщения, узлы; просвет их узкий, почти исчезающий.

Хлопчатобумажные волокна имеют вид уплощенных спиралей, перекрученных лент.

Шелк состоит из цилиндрических блестящих бесструктурных двойных нитей.

Шерстяные волокна несут на себе характерные черепицеобразно расположенные неправильной формы клетки эпидермиса.

Волосы (срамные) очень длинны, буроватого цвета, почти однородны.

5) Прочие элементы осадка. а) Уретральные нити бывают трех родов: 1) трипперные при хроническом уретрите как следствие гонорреи, 2) от долгой мастурбации и 3) вследствие механических и химических инсультов (прижиганий, катетеризации и т. п.). Для нахождения их лучше всего брать первую струю утренней мочи в количестве 10—15 см<sup>3</sup>; ее собирают непосредственно в пробирку, в которой затем подвергают центрифугированию.

Уретральные нити состоят или только из слизи и лейкоцитов (редко), или из слизи, лейкоцитов и плоского эпителия (рис. 150); нередко примешиваются еще и сперматозоиды, как это бывает, например, при сперматоррее, часто осложняющей хронический триппер.

Отыскивание уретральных нитей имеет важное значение при решении вопроса о том, есть ли у данного больного хронический гонорройный уретрит и, следовательно, есть ли возможность заражения. Обыкновенно находят большей или меньшей величины уретральные нити плавающими в утренней порции мочи. Но точное выяснение их значения производится путем отыскания в осадке гонококков — возбудителей трипперного воспаления мочеиспускательного канала.

б) Сперматозоиды (семенные нити) (рис. 151) легко отличимы по их характерному виду. Они представляют удлиненные образования, состоящие из сплюсненной с боков грушевидной головки, утонченной средней части (шейки) и очень тонкого, длинного жгутикообразного хвостика. В мочевом осадке они могут появляться от разнообразных причин: во-первых, после половых сношений — в мужской и женской моче; во-вторых, после поллюций, а также и без ощущения эрекции при сперматоррее, что чаще всего встречается у мастурбантов, неврастеников и реже при хроническом триппере; в-третьих, у эпилептиков после непроизвольного истечения семени во время припадка и, наконец, в-четвертых, можно найти сперматозоиды в последних каплях мочи, выделяющихся во время твердого стула.

в) Элементы новообразований встречаются в моче при опухолях почек, мочевого пузыря и раке предстательной железы в случаях прорастания им стенки мочевого пузыря. При указанных заболеваниях в моче можно обнаружить отдельные атипические бластоматозные клетки, конгломераты, состоящие из этих клеток, и мелкие клочки опухолевой ткани.

При исследовании мочи лучше всего пользоваться методом харьковского профессора Эрлиха. Для исследования берут свежевыпущенную мочу, так как продолжительное пребывание форменных элементов в моче, особенно при ее щелочном брожении, резко деформирует клетки.

После непродолжительного стояния мочи снимают со дна осадок в центрифужную пробирку, как при обычном исследовании мочи. Затем



небольшую порцию мочи выливают на чашку Петри, просматривают невооруженным глазом или при помощи лупы на темном и светлом фоне и при помощи прямого зубо-врачебного шпателя и препаровальной иглы тщательно отбирают на предметное стекло все подозрительные мелкие



Рис. 152. Кристаллы сульфаниламида (белый стрептоцид).

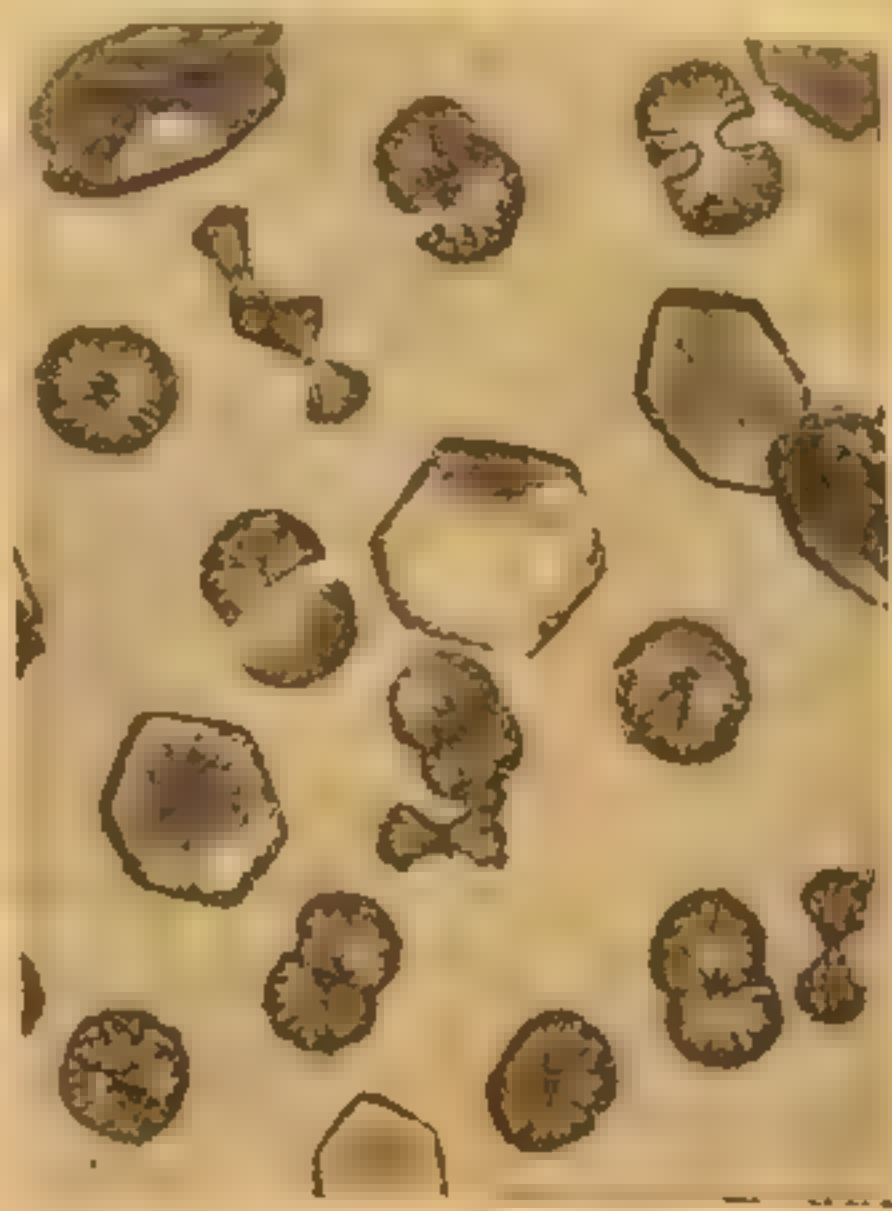


Рис. 153. Кристаллы сульфатазола (сульфазол).

тканевые клочки, которые отличаются плотноватой консистенцией, сероватым или желтоватым цветом, иногда кровавистым характером.

После просмотра первой порции мочи ее сливают и в чашку Петри наливают новую порцию; таким образом просматривают весь доставлен-



Рис. 154. Кристаллы сульфаниридина (сульфинидин).

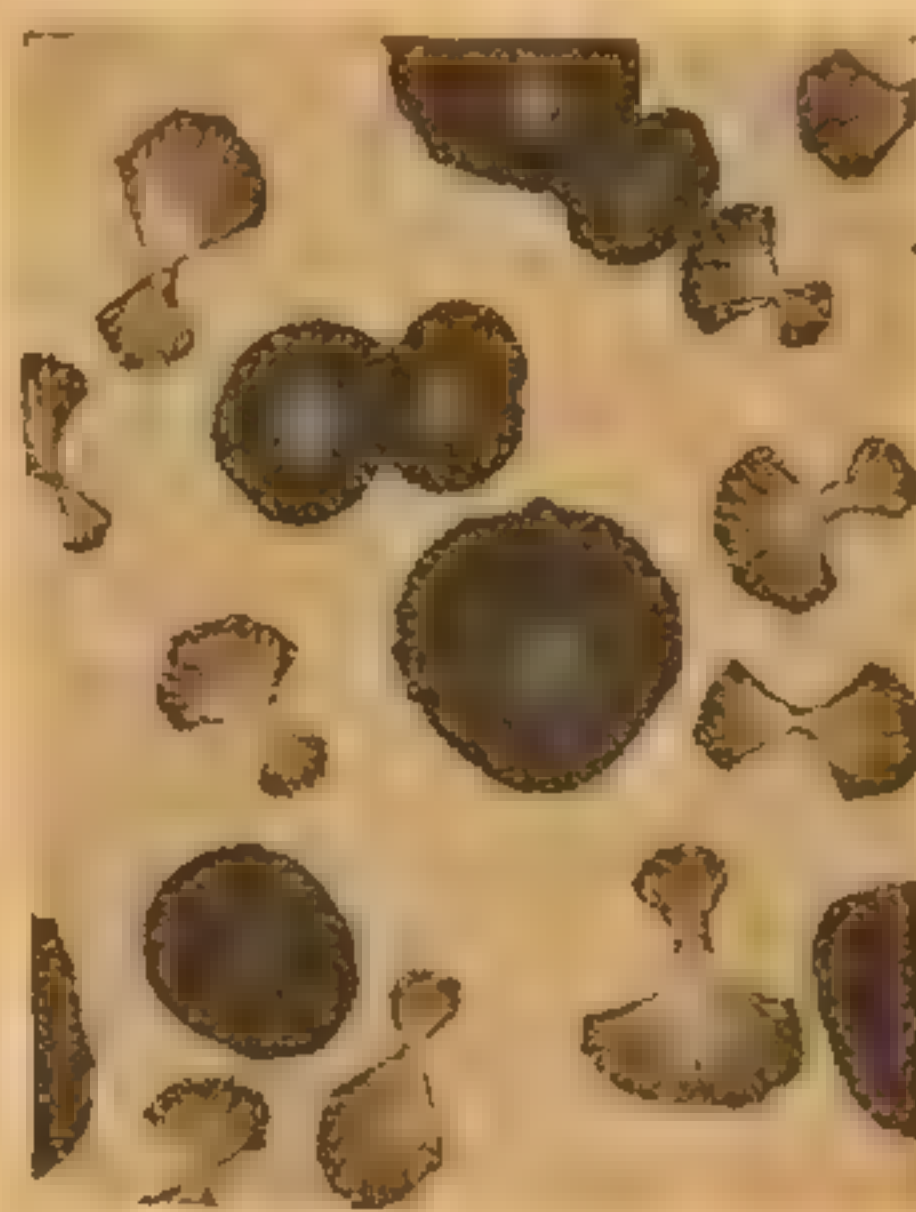


Рис. 155. Кристаллы сульфадиазина (менее известно «сульфазин»).

ный материал. Микроскопическому исследованию подвергают осадок, полученный центрифугированием, и нативные препараты всех отобранных тканевых клочков.

В настоящее время нет ни одного специфического морфологического признака, позволяющего с уверенностью отличить отдельную опухолевую



клетку от нормальной. Поэтому для отнесения клеток к категории бластоматозных, атипических приходится руководствоваться всей совокупностью морфологических особенностей клеточных элементов, встречающихся в каждом отдельном случае (см. «Исследование секретов и экскретов для диагностики злокачественных новообразований» стр. 631).

г) Кристаллы сульфамидных препаратов. В связи с применением сульфамидных препаратов в осадке мочи можно обнаружить следующие кристаллы:

1) кристаллы сульфаниламида (рис. 152), которые имеют вид длинных прозрачных кристаллов с наклонностью к скоплениям; уксусные сульфамиды образуют снопы и связки призматических кристаллов;

2) кристаллы сульфатиазола (рис. 153), имевшие вид копны пшеницы, перевязанной посередине, или двух полукругов; иногда они имеют вид розеток или шестиугольных пластинок, зазубренных на концах;

3) кристаллы сульфапиридина (рис. 154), встречающиеся в моче как ацетилсульфапиридин; наиболее частая форма их в виде точильного камня, лепестка или ладьи; могут также встречаться огромные конгломераты кристаллов, подобные тому, который имеется в углу рисунка;

4) кристаллы сульфадиазина (рис. 155); свободный сульфадиазин образует темные плотные зеленоватые шарики с пушистыми или гладкими краями. Кристаллы ацетилсульфадиазина образуют как бы копны пшеницы с эксцентрично расположенной перевязкой, которая отличается от центрально расположенной перевязки кристаллов ацетилсульфатиазола.

### ГЛАВА ТРЕТЬЯ

## ПАРАЗИТЫ МОЧИ

1) **Животные паразиты.** К животным паразитам, встречающимся в мочевом осадке, принадлежат следующие:

а) *Schistosoma haematobium* — кровяная двуустка — встречается исключительно у жителей тропиков. Паразит этот вызывает особого рода гематурию, которая характеризуется сильно жгучей болью при мочеиспускании, вследствие раздражения мочеиспускательного канала острым шипом яиц паразита.

Под микроскопом в осадке мочи находят кровь, гной, яйца паразита с шипом на заднем конце и нередко жир в большом количестве.

б) *Filaria sanguinis hominis*. Зародышей этого червя также находили у жителей тропических стран. Они массами поселяются в лимфатических и хилезных сосудах поясничной области и вызывают их закупорку и растяжение с последующим разрывом и образованием особых фистул на каком-либо месте мочевого тракта; в результате получается картина хилурии, причем моча, вследствие примеси к ней жира, принимает молочный вид; она содержит массу жира, красные и белые кровяные шарики и нередко свертки фибрина.

в) Эхинококк. В мочевом осадке можно найти крючья и куски оболочек эхинококкового пузыря, реже целые дочерние пузыри (см. «Мокрота»). Это бывает в том случае, когда эхинококк или развивается где-либо в мочевых путях, или прорвался туда из какого-либо соседнего органа. Большей частью в мочевом осадке находят, кроме характерных крючьев и оболочек, также кровь, гной и форменные элементы той части мочевого аппарата, которая непосредственно пострадала во время развития пузырной глисты.



г) *Eustrongylus gigas* — свайник-великан — был найден в моче женщины, страдавшей хилурией и одновременно припадками истерии. Выхожение этого круглого червя с мочой сопровождалось исчезновением хилурии и прекращением всех нервных симптомов (Москато).

д) *Oxyuris vermicularis* (по новой номенклатуре *Enterobius*, нередко заползает из заднепроходного отверстия в наружные половые органы девочек, откуда самые черви и их яйца и вымываются во время акта мочеиспускания. Подробное описание червя и яиц см. в главе о паразитах каловых масс.

е) *Trichomonas vaginalis* (из класса инфузорий) сравнительно часто попадает в женской моче, к которой примешивается влагалищная слизь. Паразит этот имеет овальную форму, на переднем конце снабжен 1—3 жгутикообразными отростками, на одной стороне имеет колеблющуюся перепонку и на заднем конце — штопорообразный отросток; большей частью находится в оживленном движении. Патологическое значение — см. «Выделения влагалища».

2) Растительные паразиты (микроорганизмы). В свежесвыпущенной нормальной моче нет бактерий; после же стояния мочи на воздухе количество их бывает огромно, причем в начальном периоде ферментативных процессов находят главным образом микрококк. С поверхности мочи иногда получается почти чистая культура этого микроба, который легко узнается без всякого специального окрашивания.

Кроме описанного кокка, находят в большом количестве короткую, но толстую палочку. Отдельные палочки и кокки большей частью находятся в оживленном движении; они, повидимому, играют главную роль в расщеплении мочевины с образованием углекислого аммония (при щелочном брожении мочи).

Далее, в моче встречается сарцина в виде туюков с закругленными углами; она мельче, чем желудочная сарцина, которая описана ниже (см. «Желудочное содержимое»).

При дальнейшем разложении мочи появляются дрожжевые грибки и, наконец, в уже гниющей моче — плесени.

а) Дрожжевые грибки имеют вид маленьких прозрачных круглых или яйцевидных образований, иногда соединяющихся в цепочки большей или меньшей величины. Их можно легко смешать с красными кровяными клетками, а иногда с гнойными шариками; разница заключается в том, что дрожжевые грибки имеют блестящий вид, без ядра, тогда как гнойные шарики мелкозернистые и содержат ядро, особенно резко выступающее от прибавления уксусной кислоты. Отдельные дрожжевые клетки можно встретить в период брожения каждой мочи. Но особенно много их бывает в сахарной моче при диабете, часто даже в свежесвыпущенной моче. Здесь они образуют очень большие клеточные формы, часто сгруппированные в виде венков или кучек. На этом основании при всяком обильном содержании дрожжевых грибков в моче следует подозревать существование гликозурии.

Из плесеней чаще других встречается в моче *Penicillium glaucum* в виде ветвящихся нитей (мицелий), иногда со спорами.

Иногда уже в свежесвыпущенной моче наблюдается масса бактерий; такая моча мутна, она не проясняется вполне даже после отстаивания и фильтрации. Это состояние носит специальное название бактериурии. Хотя находящиеся при этом бактерии большей частью неболезнетворны, все же такое состояние нельзя считать нормальным, так как бактерии разлагают мочу в мочевом пузыре.

Мочу для бакт.  
ством стерильного  
обмывания наружных  
уретры; даже при со  
мочи выливают и со  
В тех случаях, когд  
солому после тин  
самому и пользуются  
через мочеиспускате  
Исследование м  
после ее выделения;  
рожности, случаи  
генную флору. Мочу  
прозрачную жидкост  
клетки фильтруют и т  
осадка. Если моча с  
Так как бактерии п  
полагается только  
ее пополам спиртом  
Исследование б  
были уже неоднок  
ных препаратов, п  
См. отдел X.  
б) Туберку  
важное значение и  
определяет диагно  
был органов, ча  
пузыря. Но надо  
роны, при явном  
в моче туберкул  
ных изменений  
(при милиарном  
почек и искать  
гноя, а иногда  
или другие мик  
заний на прису  
При исслед  
таться с тем,  
тельно мало;  
исследования  
извлечь их из  
ной за сутки  
обычно утрет  
подала и утр  
сконцентрир  
фигурировав и  
порцию моч  
партию моч  
вины, по  
иции туб  
изтрудени  
блестроход  
сцентри  
рил, осаж



Мочу для бактериологического исследования следует брать посредством стерильного катетера, причем катетер вводят после тщательного обмывания наружных половых органов и спринцевания переднего отрезка уретры; даже при соблюдении этих предосторожностей первые порции мочи выливают и собирают в стерильный сосуд последующие порции. В тех случаях, когда почему-либо нельзя ввести катетер, предлагают больному после тщательного обмывания и спринцевания помочиться самому и пользуются опять только второй порцией мочи, которая прошла через мочеиспускательный канал, уже обмытый первой порцией.

Исследование мочи должно производиться по возможности скоро после ее выделения; иначе попавшие в нее, несмотря на все предосторожности, случайные микробы быстро размножаются и затемняют патогенную флору. Мочу центрифугируют в стерильных пробирках, сливают прозрачную жидкость с осадка, заменяют ее новой порцией мочи и снова центрифугируют и т. д., пока не будет получено достаточное количество осадка. Если моча содержит много уратов, ее предварительно нагревают. Так как бактерии при центрифугировании плохо оседают, то, если предполагается только изучение мазка, понижают удельный вес мочи, разводя ее пополам спиртом.

Исследование бактерий мочи производят по тем же правилам, какие были уже неоднократно изложены, т. е. путем изучения сухих окрашенных препаратов, посредством посева на среды и заражения животных. См. отдел X.

б) Туберкулезные палочки. С клинической стороны весьма важное значение имеет нахождение в моче туберкулезных палочек. Оно определяет диагноз в случаях туберкулезного процесса в области мочевых органов, чаще творожистого перерождения почек или мочевого пузыря. Но надо иметь в виду и то обстоятельство, что, с одной стороны, при явном туберкулезном процессе в почках иногда не находят в моче туберкулезных палочек, а с другой стороны, и без всяких видимых изменений в мочевом аппарате встречаются туберкулезные палочки (при милиарном туберкулезе). Вообще же надо предполагать туберкулез почек и искать палочки в моче, если в моче имеется белок и осадок из гноя, а иногда и крови, причем не удастся открыть кишечную палочку или другие микробы и вместе с тем клиническая картина не дает указаний на присутствие камня.

При исследовании мочи на туберкулезные палочки приходится считаться с тем, что туберкулезных палочек с мочой выделяется относительно мало; поэтому необходимо, будь то для бактериоскопического исследования на мазке или для посева, или для заражения животного, извлечь их из возможно большего количества мочи, желательно собранной за сутки. В то же время туберкулезными бациллами наиболее богата обычно утренняя моча; необходимо, чтобы в общую массу суточной мочи попала и утренняя порция. Однако из большого количества мочи нелегко попасть и утренняя порция. Однако из большого количества мочи нелегко сконцентрировать бактерии. Пытались, наполнив центрифужку, отцентрифугировав и слив прозрачный верхний слой, наливать на осадок новую порцию мочи, вновь центрифугировать, сливать, снова наливать новую порцию мочи и продолжать подобное «фракционированное центрифугирование», пока не будет использована вся моча. Но такой способ в отношении туберкулезных бацилл наталкивается на значительные технические затруднения, поскольку при этом приходится центрифугировать на очень быстрой центрифуге (4000—6000 оборотов в минуту). Выгоднее сконцентрировать бактерии, вызывая в моче образование осадка, который, осаждаясь, увлекал бы их за собой. Для этой цели на каждые 100 см<sup>3</sup>



мочи приливают 0,25 см<sup>3</sup> двузамещенного фосфорнокислого калия (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), осторожно подщелачивают 1%, раствором едкого натра до слабозерозового окрашивания фенолфталеиновой бумажки, тщательно смешивают и прибавляют, все время помешивая, 0,5 см<sup>3</sup> 10% хлористого кальция. Образуется мелкохлопьевидный осадок. Моча должна быть налита в большой конический бокал, в котором осадок мог бы постепенно оседать на дно; этот процесс продолжается 6—7 часов. Осадок занимает обычно 70—100 см<sup>3</sup>. Жидкость сливают, к осадку прибавляют по каплям 50% уксусную кислоту до полного растворения фосфатов. Таким путем получается для исследования 70—100 см<sup>3</sup> мочи, в которой сконцентрированы все бактерии, находившиеся ранее во всем суточном количестве. Центрифугируют 20 минут с указанной выше скоростью, размазывают осадок на 3—4 предметных стеклах и окрашивают по Циль-Нильсену, как было описано для мокроты.

Последнее время для обнаружения туберкулезных палочек в моче стали применять метод флотации. К 200—300 см<sup>3</sup> мочи прибавляют 1—2 см<sup>3</sup> толуола или ксилола. Энергично взбалтывают в литровой колбе в течение 20 минут, затем доливают дистиллированной водой, так чтобы уровень жидкости находился в горлышке колбы. Оставляют стоять 1—2 часа. Образовавшийся за это время на поверхности тонкий кремообразный слой толуола или ксилола осторожно снимают пипеткой и переносят на предметное стекло, находящееся над парами кипящей водяной бани. В дальнейшем окрашивают мазок так же, как при исследовании мокроты (см. отдел «Мокрота»). При наличии массивного гнойного осадка сливают верхний слой мочи, а осадок обрабатывают по правилам, изложенным в отделе «Мокрота».

При исследовании мочи на палочки Коха любым из указанных выше методов часто обнаруживаются палочки смегмы и другие еще неизвестные кислото- и спиртоустойчивые сапрофиты, могущие дать повод к ошибочной диагностике туберкулеза мочевыводящего тракта.

Указанные палочки и сапрофиты отличаются от бацилл Коха более грубой структурой, резко срезанными концами, большей толщиной. Величина их варьирует; наряду с довольно крупными экземплярами, встречаются особи, напоминающие кокки.

Палочки смегмы и сапрофиты обесцвечиваются при длительной обработке солянокислым спиртом. Поэтому при окраске по Цилю мазки нужно обесцвечивать 2—3 часа. За это время палочки смегмы и сапрофиты обесцвечиваются, а палочки Коха сохраняют красную окраску.

Однако отрицательный результат описанного исследования для точного диагноза все же недостаточно надежен; необходимо проверить его заражением подопытных животных или путем посева на среды (см. стр. 709 и 740).

в) Гонококки. В моче встречаются также гонококки, которые вызывают специфическое воспаление всего мочевого тракта, уретрит, цистит и пиелонефрит. Нахождение их в мочевом осадке в некоторых случаях имеет весьма важное практическое значение.

Далее, при исследовании мочи следует иметь в виду в качестве возбудителей болезни или смешанной инфекции следующие микробы: палочки, относящиеся к группе *B. coli*, стафило- и стрептококки, *Micrococcus ureae* и *Proteus vulgaris*, а при брюшном тифе — тифозные бациллы.

г) Кишечная палочка очень часто является возбудителем циститов; если нет смешанной инфекции, то моча сохраняет кислую реакцию. На окрашенном мазке кишечная палочка имеет вид толстоватой прямой палочки неодинаковой длины, с закругленными концами; палочки лежат поодиночке, парами или кучками или образуют ложные нити. По-



Граму они обесцвечиваются. На агаре и других общепотребительных средах относительно быстро получается рост; желатина не разжижается (см. «Микробиологические и серологические исследования»).

д) Стафило- и стрептококки относительно редко содержатся в моче в качестве самостоятельных возбудителей болезней мочевыводящих путей, но довольно часто являются возбудителями смешанной инфекции. При циститах и пиелитах, вызванных этими кокками, моча имеет слабокислую или слабо щелочную реакцию. Оба эти вида хорошо окрашиваются по Граму. Способы распознавания их описаны в отделе десятом.

е) *Micrococcus ureae* тоже чаще служит причиной смешанной инфекции. При наличии этого микроба моча всегда имеет щелочную реакцию, так как он разлагает мочевины с образованием мочекислового аммония. В окрашенном мазке микрококки лежат поодиночке или парами или образуют тетрады; они окрашиваются по Граму; при посевах на обычные питательные среды они хорошо развиваются и образуют на агаре белые фарфоровидные колонии. Для распознавания культур микрококки засевают на кислую стерильную мочу и ставят на 24 часа в термостат при 37°. По истечении этого времени в пробирку опускают красную лакмусовую бумагу, однако так, чтобы она не приходила в соприкосновение с мочой; при разложении мочевины образуются пары аммиака, от которых бумажка синее.

ж) *Proteus vulgaris* вызывает воспаление мочевого пузыря либо самостоятельно, либо совместно с другими микробами, чаще всего с кишечной палочкой. В висячей капле *Proteus* проявляет оживленную подвижность. На окрашенном мазке находят палочки различной величины, иногда образующие нити; по Граму большинство палочек обесцвечивается.

з) Тифозные палочки при заболевании тифом часто выделяются с мочой; моча сохраняет кислую реакцию. Тифозные бактерии содержатся в ней в огромном количестве, причем других микробов обычно не встречается. Обнаружение и распознавание описаны в отделе десятом.

#### ГЛАВА ЧЕТВЕРТАЯ

### МОЧЕВЫЕ СРОСТКИ, ИЛИ КАМНИ

Под влиянием некоторых еще не достаточно изученных условий каждая из солей, описанная при исследовании мочевого осадка, может выпасть из раствора еще внутри организма, где-либо на протяжении мочевыводящих путей. При этом образуются или небольшие сrostки, известные под названием почечного или мочевого песка, или же более крупные конгломераты; по месту нахождения различают более частые камни мочевого пузыря и более редкие — почечные, находящиеся в почечных лоханках или мочеточниках. Сrostки могут образоваться вследствие выделения, скопления и наслоения составных частей мочи (мочевая кислота, ураты, щавелевокислый кальций, цистин) — первичные камни; или эти же соли скопляются вокруг инородного тела, реже вводимого извне, например, обломка катетера, оставшегося в мочевом пузыре после катеризации, чаще вокруг свертка фибрина, комочка муцина и т. п. Эти инородные тела служат ядром, на которое слоями откладываются составные части мочи, образуя так называемые вторичные камни. Нередко образуется небольшой первичный сrostок, который, находясь в мочевом пузыре, служит таким инородным телом; развивается цистит, сопровож-



дающийся щелочным брожением мочи и наслоением на первичный камень, как на ядро, уже других солей. На поперечном распиле более крупных камней почти всегда можно найти ядро и несколько различных слоев, так что подобные поперечные распилы несколько напоминают годовые слои дерева.

При исследовании мочевых камней отмечают в первую очередь их величину, далее, цвет, свойства поверхности, твердость, вид поперечных распилов. При химическом исследовании желательнее определять состав каждого слоя отдельно, но часто это оказывается невозможным ввиду недостатка материала.

Чаще всего встречаются камни трех типов: уратовые (из мочекислых солей и мочевой кислоты), оксалатовые (из щавелевокислого кальция) и фосфатовые (из фосфорнокислых щелочных земель). Гораздо реже находят сrostки, состоящие из углекислого кальция (чаще в предстательной железе), из цистина, ксантина, холестерина или индиго. В единичных случаях описаны так называемые уростеалиты, состоящие главным образом из холестерина, иногда из жирных кислот. Иной раз полное сходство с камнем может принимать сгусток фибрина.

Мочекислые камни (из мочевой кислоты и уратов) в нашей практике встречаются нечасто. Величина и форма их очень различны. Камни мочевого пузыря могут иметь размер от горошины до гусиного яйца; в почке они могут заполнить всю почечную лоханку. Цвет их обычно серовато-желтый, желто-коричневый или красно-коричневый, поверхность иногда гладкая, чаще же шероховатая или мелкобугорчатая. Они очень тверды и режутся с трудом. На поперечном разрезе видны мелкие различно окрашенные концентрические слои, так как на первичном сrostке осаждалась органическая субстанция, например, слизь, затем опять слой мочевой кислоты или уратов, а иногда и слой щавелевокислого кальция. Мочекислые камни — первичные.

Камни из мочекислого аммония находят в виде первичных сrostков у новорожденных детей; у взрослых они чаще образуются как вторичные. Они по большей части небольшого размера, светло- или темножелтые; во влажном состоянии они довольно мягкие; по высыхании легко распадаются в порошок.

Оксалатовые камни по частоте нахождения занимают первое место. Они или мелкие и гладкие, или же большого размера (до нескольких сантиметров) и имеют крупнобугорчатую поверхность. В последнем случае они часто сложного состава, причем оксалаты образуют только поверхностные слои или же, наоборот, щавелевокислая известь составляет ядро, вокруг которого отлагаются мочекислые соединения. Часто присутствие их вызывает кровотечение; тогда поверхность их темная, почти черная. По сравнению с другими сrostками они отличаются наибольшей твердостью.

Фосфатовые камни состоят из фосфорнокислого кальция и трипельфосфата. Они могут достигать значительной величины, цвет их желтовато-белый или серый, поверхность шероховатая, как бы покрытая песком, консистенция мягкая, довольно ломкая, поверхность распила кристаллическая. Обычно они образуются вокруг мелкого мочекислого сrostка или инородного тела.

Цистиновые камни встречаются редко; образуются они первично и могут достигать значительной величины, цвет их белый или же желтоватый, поверхность гладкая или же шероховатая, консистенция мягкая, как воск, поверхность распила кажется кристаллической.

Остальные виды сrostков встречаются еще более редко.



Ход исследования. Сросток измельчают в маленькой ступке. Частицу порошка сжигают на листочке платины, чтобы отметить, состоит ли сросток преимущественно из несгорающих (фосфаты, карбонаты, щавелевокислая известь) или сгорающих соединений (мочевая кислота, цистин, ксантин, фибрин). Мочекислые камни при сгорании дают запах синильной кислоты. Присутствие оксалатов характеризуется своеобразным красным тлением; при этом образуется  $\text{CaO}$ , который реагирует как щелочь: полоска фенолфталеиновой бумаги, смоченная водой, краснеет; щавелевая кислота переходит в угольную и разлагается в уксусной кислоте с выделением пузырьков. Цистин горит синеватым пламенем и дает запах сернистой кислоты. Уростеалиты отличаются светящимся пламенем и смолистым запахом.

Другую часть порошка растворяют в крепкой соляной кислоте. При этом часть его растворяется (раствор А), часть же остается нерастворенной (осадок I).

Осадок I. Нерастворенными остаются органические субстанции и мочевая кислота. Осадок отделяют центрифугированием; часть его осторожно выпаривают на крышке фарфорового тигля в капле азотной кислоты до высыхания: мочевая кислота дает покраснение; при прибавлении капли аммиака получается красивое пурпурно-красное окрашивание, а с едким натром — сине-фиолетовое (мурексидная проба). Другую частицу осадка сжигают на листочке платины; при сгорании мочекислых соединений появляется запах синильной кислоты.

Раствор А (солянокислый) может содержать щавелевокислую и сернокислую известь, фосфаты, цистин и ксантин. Прибавляют немного аммиака, причем выпадает осадок (II) из фосфатов и оксалатов. Осадок II отделяют центрифугированием и прибавляют ледяной уксусной кислоты и воды. Растворяются фосфаты (раствор Б), нерастворенными остаются оксалаты, а также цистин. Вновь центрифугируют. Осадок III: оксалаты растворяют в соляной кислоте; при нейтрализации аммиаком они вновь выпадают, образуя характерные кристаллы (почтовые конверты); при сжигании частицы осадка на платиновом листочке получается тление и образуется щелочно реагирующий порошок (см. выше).

Раствор Б. Уксуснокислый раствор разделяют на две пробирки; в одну прибавляют немного щавелевокислого аммония: если в растворе находилась фосфорнокислая известь, то она выпадает в виде кристаллов щавелевокислого кальция. Их отфильтровывают, к фильтрату (раствор В) прибавляют около  $\frac{1}{3}$  его объема аммиака. Появление кристаллического осадка указывает на присутствие магнeзии и фосфорнокислых солей.

Во вторую пробирку прибавляют несколько капель азотной кислоты и молибденовокислого аммония и слегка подогревают: пожелтение и выпадение небольшого осадка тоже доказывают присутствие фосфорной кислоты; таким образом, решается вопрос о присутствии фосфорнокислого кальция.

В присутствии карбонатов убеждаются следующим образом: на предметное стекло кладут каплю соляной кислоты и немного измельченного камня и наблюдают под микроскопом за выделением пузырьков углекислоты.

Проба на аммиак: часть измельченного камня переносят в пробирку и взвешивают в воде; прибавляют немного 30%  $\text{NaOH}$  и слегка подогревают, держа над пробиркой красную лакмусовую бумажку. Выделяются пары аммиака, вызывающие посинение бумажки.

Если обе последние пробы дают отрицательный результат, то камень не содержит также магниальных соединений.



Цистин также ищут в основной субстанции камня: немного порошка растворяют в аммиаке; при медленном испарении аммиака образуются характерные шестиугольные таблицы. Можно открыть его также в растворе А: солянокислый раствор подщелачивают аммиаком: если образовался осадок, его отфильтровывают и промывают водой с небольшим количеством аммиака. Фильтрат выпаривают в водяной бане до небольшого объема и подкисляют уксусной кислотой. При этом цистин выделяется в виде шестиугольных табличек. Осадок отделяют центрифугированием и кипятят с едким натром: цистин при этом образует сернистый натрий, который при прибавлении нескольких капель раствора уксуснокислого свинца дает черное окрашивание.

## ГЛАВА ПЯТАЯ

### ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ ПОЧЕК

Функциональное исследование почек имеет большое значение, так как часто при отсутствии анатомического поражения и клинических симптомов налицо могут оказаться функциональные нарушения. Функциональное обследование почек затрудняется тем, что они являются парным органом и каждая из почек может заболеть изолированно, а здоровая почка берет на себя, гипертрофируясь, компенсаторную функцию больной почки. Следует также принимать во внимание, что работа этого органа заключается в выполнении ряда не зависящих друг от друга функций.

Наблюдения за суточным балансом воды, хлористого натрия, мочевины и других продуктов обмена могут дать очень ценные указания относительно нарушения той или другой частичной функции почек. Однако этим способом устанавливается лишь выделительная способность почечных элементов при определенных, обычно не очень высоких требованиях и только по отношению к исследуемому веществу. Работоспособность же почек не исчерпывается поддержанием баланса этих веществ в крови. Для клинициста особенно важно определить и так называемые запасные силы почек, которые позволили бы решить вопрос о том, может ли почка, работающая удовлетворительно при обычных условиях, повышать в случае необходимости свою выделительную способность не только для воды, но и для твердых веществ.

Все функциональные пробы почек имеют целью: 1) установление формы поражения и их функциональной способности, 2) установление топического поражения почек соответственно их анатомо-гистологическому строению.

В зависимости от этих целей производят исследования выделения как обычно входящих в состав мочи веществ (воды, хлоридов, мочевины и т. д.), так и чуждых организму веществ: красок индигокармин (индиго-сернокислый натрий), фенолсульфоталеин (фенолрот), некоторых солей иода (иодистый калий или сложная иодистая соль) или других химических веществ — инулин, молочный сахар и др.

### ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИИ ПОЧЕК

Из экстраренальных факторов, влияющих на диурез, особенно большое значение имеет состояние тканей: наличие отеков, иногда еще неясно определяемых (предсердечное состояние, работа сердца), а также состояние вегетативных центров (гипофизарно-гипоталамической области).



Наряду с определением суточного количества мочи, важное значение имеет определение ее плотности путем установления молекулярной концентрации мочи методом криоскопии или установления удельного веса обычным урометром (см. удельный вес, проба с нагрузкой водой и сухоядением, проба по Зимницкому).

**1) Проба с разведением и на концентрацию.** Для распознавания общей функции почек большое значение имеет проба с разведением и на концентрацию. Эта проба может оказать ценные услуги в распознавании функциональных нарушений почек.

Пробы на разведение и на концентрацию производятся следующим образом: больному утром натощак после опорожнения мочевого пузыря дают выпить 1,5 л воды или очень жидкого чая; после этого он все время остается в постели. Мочу собирают каждые 30 минут в течение 4 часов. В каждой порции мочи определяют количество и удельный вес. Здоровый выделяет 1500 см<sup>3</sup> жидкости обычно в течение 4 часов; небольшие колебания в сторону выделения большего или меньшего количества не имеют значения. Обращают внимание не только на общее количество выделенной жидкости, но и на весь ход выделения. При нормальных условиях получасовые порции имеют неодинаковый объем: в течение первых двух часов выделяется больше мочи, чем в течение двух последних. Самая большая порция должна иметь не менее 400 см<sup>3</sup> и даже больше; удельный вес должен понизиться до 1002—1001.

При измерении удельного веса нужно помнить, что на нем отражаются колебания температуры мочи, а также содержание в ней белка (см. «Удельный вес» стр. 301).

Недостаточность почки выражается в задержке некоторого количества воды: за 4 часа выделяется не 1500 см<sup>3</sup>, а меньше, и, что не менее важно, отдельные порции меньше разнятся между собой по объему и удельному весу: ни одна порция не достигает 400 см<sup>3</sup>, удельный вес ни разу не падает до 1001 и вообще не дает больших колебаний, а остается близким к 1010 (изостенурия или гипостенурия). Эта особенность отдельных порций отличает ненормальный результат пробы с водной нагрузкой вследствие почечной недостаточности от расстройства выделения воды, вызванного экстраренальными причинами. Если имеется отечность явная или скрытая, то ткани задерживают некоторое количество жидкости, и общее выделение не достигает 1500 см<sup>3</sup>; но отдельные порции все же еще разнятся между собой по объему и удельному весу, и во всяком случае последний не фиксирован вокруг 1010 или близкой величины. Таким образом, опыт с водной нагрузкой, дающий замедленное выделение при сохранившейся способности к разведению и достаточном разнообразии отдельных порций, указывает на скрытое отечное состояние. Этот вывод может быть проверен: если повторная водная нагрузка, произведенная без соблюдения лежачего положения, протекает хуже первой, проведенной в постели, то это говорит о важной роли тканей в этом опыте. О том же говорит опыт Кауфмана: если выделение мочи идет лучше, когда ноги больного подняты кверху, чем в горизонтальном положении, то причина задержки воды внепочечная.

Проба на концентрацию проводится через день. Больной находится на сухоядении. Моча собирается двухчасовыми порциями в течение 6—10 часов. В норме количество мочи падает, а удельный вес достигает 1030 и выше. При нарушении функции почек удельный вес почти не поднимается (1011—1015), и количество мочи не достигает низких цифр.

При оценке результатов опыта с разведением и на концентрацию необходимо иметь в виду ряд условий, могущих оказывать влияние на исход



пробы. Если, например, ткани отечны и в период сухоядения отдают воду, то удельный вес не повышается, как и при почечной недостаточности, но в отличие от последней не падает объем отдельных двухчасовых порций. Кроме того, и удельный вес их если и не повышается до 1030 и выше, то все же колеблется в значительных пределах, а не фиксирован вокруг 1010 или близкой цифры, как при тяжелых степенях почечной недостаточности.

Наличие лихорадки, поносы, поты, предшествующее пробе ограничение жидкости или предварительное ее введение, характер диеты до пробы, состояние эндокринных желез, анемическое и кахектическое состояние, влияние нервной системы должны быть учтены при оценке результатов пробы.

Наличие расстройства выделения и концентрационной способности говорит в пользу диагноза диффузного заболевания почки и против очагового поражения.

Результаты обоих опытов иногда различны: опыт с водной нагрузкой может протекать нормально, тогда как проба на концентрацию указывает на патологическое состояние почек, и наоборот. Расстройство выделения при сохранившейся или почти сохранившейся концентрационной способности почек наблюдается при остром нефрите, понижение концентрационной способности без заметного расстройства выделения — при сморщенной почке.

Опыт с водной нагрузкой противопоказан при наличии резко повышенного кровяного давления и при сердечной недостаточности; опыт с концентрацией при этих состояниях не противопоказан. Опыт с водной нагрузкой может дать больше диагностических указаний, если продолжить его на полные сутки; в частности, можно таким путем установить никтурию.

Описанный выше метод определения функции почек характеризует их суммарную работу в отношении выделения воды.

Наряду с этими способами, большое распространение получили методы, имеющие целью выяснить частичную функцию почек в отношении выделения хлористого натрия, щелочи (двууглекислой соды) или кислоты, мочевины и т. д. путем нагрузки соответствующим веществом.

**2) Исследование функции почек по Зимницкому.** Так как почки являются одним из главных экскреторных органов, то они несут регуляторные функции по отношению к водному и солевому обмену. Но для выполнения этой работы почки должны обладать способностью быстро приспосабливаться ко всяким переменам в составе крови, а такой способностью обладают в полной мере только здоровые почки. Так как каждый прием пищи и даже питье воды отражаются на составе крови, то и состав мочи должен резко изменяться в течение дня. Исходя из этого соображения, Зимницкий предложил свой способ исследования почек, имеющий то несомненное преимущество, что он ничем не обременяет больного. Оставаясь на обычном столе, больной должен собирать мочу отдельными порциями через каждые 3 часа в течение полных суток, не исключая и ночи. В каждой из восьми порций определяют количество мочи, удельный вес и количество хлора; желательно определять также количество мочевины. Чем разнообразнее полученные данные, тем больше, следовательно, приспособляемость почки; чем они равномернее, тем работа ее хуже и поражение тяжелее. Суммируя общее количество мочи во всех порциях, определяют суточный диурез: у здорового человека количество мочи составляет 65—75% выпитого. Сравнивают также дневной и ночной диурез: обычно днем выделяется  $\frac{2}{3}$ — $\frac{3}{4}$  всей мочи; но больные почки не успевают выпол-



нить за день всю эту работу, так что часть ее совершается ночью; ночной диурез может даже превысить дневной. Необходимо помнить, однако, о значении и экстраренальных факторов (сердечная слабость).

Недостатком этого способа является полное отсутствие учета пищевого и питьевого режима. Для того чтобы отдельные порции сколько-нибудь заметно отличались одна от другой, необходимо, чтобы больной в течение дня получал разнообразную пищу и питье. Если этого нет, если мочу собирают трехчасовыми порциями, например, когда больной находится на молочно-растительном режиме и получает каждые 2—3 часа какое-нибудь легкое блюдо, то результат пробы, очевидно, не только ничего не выяснит, но даже может ввести в заблуждение. Основываясь на отсутствии разнообразия отдельных порций мочи, диагностируют тяжелую недостаточность почек, хотя для разнообразия нет никаких причин. Поэтому необходимо проводить эту пробу при стандартном пищевом и питьевом режиме, включающем воду, соли, пурины и азот. Более того, необходимо взять на учет и режим предыдущих дней, так как иначе больной может в опытный день выявлять какую-нибудь задержку или, наоборот, пополнять какой-нибудь недостаток. Поэтому правильное уложить больного в постель, назначить на 3 дня режим, содержащий определенное количество жидкости (около 2000 см<sup>3</sup>) и соли (8—12 г), и затем перевести в день опыта на стандартную диету.

**3) Нагрузка хлористым натрием.** Техника состоит в следующем. После того как было установлено солевое равновесие (соотношение между введенным и выведенным хлористым натрием), дают утром натощак 10 г хлористого натрия. В первый день здоровыми почками выделяется 7—8—10 г, на второй день — около 2 г хлористого натрия, причем значительно возрастает процентное выделение его и часто наблюдается также повышение диуреза. При больных почках обычно в первый день такое обильное выделение хлористого натрия отсутствует; введенная соль выделяется более равномерно в течение 2—3 дней; процентное содержание соли возрастает мало, а в некоторых случаях весь введенный хлористый натрий задерживается в организме. Однако выделение хлора подвергается большому количеству экстраренальных влияний, так что оценка результатов пробы с нагрузкой затруднительна. При наличии отеков хлористый натрий не следует давать, так как он легко может уйти в ткани и увеличить отеки. Вообще многие авторы считают введение значительного количества хлористого натрия безразличным для организма. Необходимо учитывать, что выделение NaCl подчиняется тем же закономерностям, что и выделение воды.

**4) Нагрузка щелочью.** Если ввести человеку со здоровыми почками некоторое количество кислоты или щелочи, то моча уже через короткий срок становится соответственно более кислой или более щелочной. Ухудшение функции почек ведет к нарушению обмена щелочными и кислотными веществами между почками и другими тканями и к развитию ацидоза; самые ткани также иначе реагируют на введение кислоты или щелочи, чем здоровые. Вследствие этого больные почки недостаточно быстро реагируют на нагрузку, например, щелочью, выведением щелочной мочи; отдельные порции мочи после нагрузки кислотой или щелочью меньше разнятся между собой в отношении кислотности и щелочности, чем у здоровых. Способ испытания функции почек нагрузкой щелочью очень чувствителен и нередко дает возможность обнаружить ослабление работы почек уже в такой момент, когда кровь еще не перегружена белковыми шлаками.



Техника ее состоит в следующем. Больному после опорожнения мочевого пузыря дают выпить натощак 20 г двууглекислого натрия и 400 см<sup>3</sup> воды; в течение ближайших 2 часов через каждые 30 минут у него берут мочу для исследования. Во всех 5 порциях, считая порцию, полученную до нагрузки щелочью, определяют концентрацию водородных ионов по Михаэлису. У здоровых в течение этих 2 часов концентрация водородных ионов хотя бы в одной порции достигает 8,0; чем хуже функция почек, тем менее повышается щелочность мочи.

Введение соды переносится больными хорошо; в некоторых случаях, если почечный больной вообще жалуется на тошноту, сода вызывает рвоту, так что от нее приходится отказаться. В редких случаях щелочь вызывает понос, который сам по себе не искажает результатов; но необходимо предупредить больных, чтобы они, по возможности, во время дефекации не теряли мочи.

Технику пробы можно еще упростить и сделать более приятной для больного, давая ему через каждые 2 часа по 5 г двууглекислого натрия. Мочу испытывают лакмусовой бумажкой. У здоровых она становится щелочной уже после первой или второй дачи соды; у почечных больных требуется больше соды, в тяжелых случаях — 50—80 г.

Диагностическое значение. Результаты пробы с нагрузкой щелочью обычно параллельны результатам исследования на разведение и концентрацию; иногда эта проба позволяет уловить более легкие степени недостаточности, т. е. отклонение от нормы (необходимость введения более 5—10 г) отмечается в случаях, где пробы с выделением воды и сухоядением еще дают хороший результат; иногда наблюдается и обратное. Ненормальное течение пробы говорит о диффузном процессе, а не об очаговом. Начальные стадии злокачественного склероза распознаются этой пробой уже тогда, когда в крови еще нет признаков задержки. При нефрозах выделение щелочи протекает нормально, при гломерулонефритах с нефрозом выделение щелочи может быть нарушено. Если при остаточной альбуминурии после острого нефрита выделение щелочи нормально, то прогноз благоприятен.

Однако проба на защелачивание мочи не является по существу только функцией почек. При ацидотических состояниях потребное количество соды для доведения мочи до щелочной реакции может значительно увеличиваться (например, при диабете иногда может потребоваться соды больше чем 100 г) (см. стр. 246).

**5) Нагрузка мочевиной.** Наряду с определением характера выделения почками воды и хлористого натрия, в диагностике функционального состояния почек большое значение имеет характер выделения азотистых веществ. Количественное определение одного из главных азотистых продуктов — мочевины — может до известной степени служить средством для функциональной диагностики почек. Суточное количество мочевины в моче у здорового человека при смешанной диете равно 20—35 г. При пище, богатой белковыми веществами, суточное содержание мочевины в моче можно доводить до 100 г. Нормальные почки в течение 2 часов выделяют 1,2—1,8 г мочевины. Выделение менее 0,75 г можно считать признаком плохой работоспособности почек.

**Техника нагрузки.** Для определения азотвыделительной функции почек назначают после установления азотистого равновесия утром натощак 20 г мочевины (что соответствует 9,33 г азота). Здоровые почки выделяют эту нагрузку в течение 2 дней. При недостаточности функции почек выделение азота замедляется, и все введенное количество выделяется в течение 3—4 дней (можно мочевины заменить белковой пищей,



например, яйцами). Эта проба имеет значение для установления прогноза; для дифференциальной диагностики она менее важна. Мочевина определяется по одному из описанных методов (354). Предложенные пробы с отягощением почки более или менее сложной комбинацией пищевых веществ не получили распространения.

## ОЦЕНКА ФУНКЦИИ ПОЧЕК ПО НАГРУЗКЕ ЧУЖЕРОДНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

1) **Индигокарминовая проба.** Проба введена в клинику с 1930 г. и, благодаря своей простоте, получила широкое распространение главным образом в хирургической практике, так как позволяет при цистоскопии определить функции почек при их одностороннем поражении.

**Техника исследования.** Краску впрыскивают внутримышечно (0,08 г) или внутривенно (3 см<sup>3</sup> жидкости, содержащей в 20 см<sup>3</sup> 0,15 краски). При внутримышечном впрыскивании желательно получить возможно более концентрированную мочу, поэтому больному за 4 часа до исследования перестают давать жидкую пищу и питье. При внутривенном введении больному, наоборот, дают выпить перед исследованием 2 стакана воды.

При внутримышечном введении выделение начинается спустя 5—10 (12) минут; интенсивность нарастает довольно быстро, так что уже через 15—20 минут получается максимальное окрашивание; спустя 45 минут моча начинает бледнеть; все выделение продолжается около 12 часов. При внутривенном введении начало выделения — через 2 минуты после впрыскивания, максимальное выделение — через 3—5 минут; все выделение продолжается 90 минут, но в течение последних 20 минут оно минимально. Обращают внимание на начало и интенсивность выделения; продолжительностью можно пренебречь, тем более что конца все равно нельзя дожидаться. Не представляет интереса и общее количество выделенной краски.

Патологические изменения в почках могут иметь следствием: 1) замедленное начало выделения, 2) уменьшение интенсивности, 3) полное отсутствие выделений или 4) выделение неравномерное. Все эти отклонения могут встречаться как с одной, так и с обеих сторон. Запаздывание начала вдвое, т. е. появление краски только через 20 минут, всегда означает ухудшение функции почки. Полное отсутствие или резкое замедление выделения краски означает тяжелое повреждение почки. Незначительные колебания (запаздывание на несколько минут) не имеют значения.

При пиэлоэктазиях и нагнаивающемся гидронефрозе запаздывание пробы несколько не выражает функционального состояния почек.

Кроме определения момента появления краски при раздельном собирании мочи из каждой почки катетером, можно определить и интенсивность окраски мочи, полученной из каждой почки, как по сравнению с другой почкой, так и по определенному стандарту. Для сравнения интенсивности окраски мочи, полученной из каждой почки, достаточно через определенные промежутки времени брать по капле мочи на фильтровальную бумагу и сравнивать интенсивность окраски после высыхания.

2) **Проба с фенолсульфоталенином (фенолрот).** Раствор краски готовят следующим образом: 0,6 г краски растворяют в 2 см<sup>3</sup> 10 NaOH и количественно переводят в 100 см<sup>3</sup> мерную колбу, доводят до метки физиологическим раствором, фильтруют; после стерилизации раствор годен к употреблению (1 см<sup>3</sup> содержит 0,006 г краски).



Ход исследования неодинаков, в зависимости от того, предполагается ли двустороннее поражение почек и требуется ли оценка их функциональной способности или же имеется односторонний процесс и нужно выяснить, какая из почек поражена.

а) При двусторонних процессах. Больной должен опорожнить пузырь. В случае надобности мочу спускают катетером. Дают больному выпить 300—400 см<sup>3</sup> (около 2 стаканов) воды. Спустя 20 минут впрыскивают внутримышечно 1 см<sup>3</sup> раствора фенолсульфоталеина. Если имеется общий отек, препятствующий всасыванию, краску впрыскивают внутривенно. Спустя 1 час 10 минут больной должен опорожнить пузырь (в случае надобности берут мочу катетером). Спустя еще 1 час (через 2 часа 10 минут после инъекции) больной опять должен опорожнить пузырь. Измеряют объем первой и второй порции. Колориметрируют каждую пробу следующим образом: стандартный раствор готовят, разводя 0,003 г краски до 1 л в мерной колбе. Каждую из порций мочи переносят в мерную колбу емкостью в 1 л, наливают около 800 см<sup>3</sup> воды, прибавляют 5—10 см<sup>3</sup> 10% раствора едкого натра до максимального пурпурнокрасного окрашивания и доводят водой до метки. Для колориметрии пригоден любой колориметр.

Вычисление:  $B_x : B_{ст} = 50 : x$ .

Можно также изготовить серию запаянных пробирок с растворами краски различной концентрации, наподобие пробирок при определении pH мочи, и сравнивать в компараторе (стр. 303). Стандартные пробирки при хранении в темноте не изменяют цвета около года.

При здоровых почках первая порция содержит 40—50%, вторая — 25—35% краски; всего за 2 часа должно выделиться 60—75%.

б) При односторонних процессах. Дают больному выпить 2 стакана воды за 30 минут до исследования. Вводят катетеры в каждый мочеточник. Впрыскивают краску внутривенно. Спустя 5 минут собирают мочу из каждого катетера в пробирки, содержащие по несколько капель 10% раствора едкого натра. Следующие порции берут каждые 15—30 минут в течение 1 часа. Отмечают момент появления и затем исчезновения краски (моча в пробирке приобретает пурпурнокрасный цвет, который постепенно бледнеет) и определяют процент выделенной краски в каждой порции в отдельности. При здоровых почках краска появляется в моче спустя 5 минут после инъекции, но может запоздать в одной или обеих почках, вследствие рефлекса на введение катетера. Моча обеих почек вместе должна содержать в первые 15 минут 35—45%, в первые 30 минут — 50—60%, спустя 1 час — 65—80% краски.

По окончании исследования, вынимая катетеры, убеждаются, что моча не попала помимо них в мочевой пузырь, что делает результат неточным.

Как на отрицательную сторону пробы с красками следует указать на необходимость катетеризации обоих мочеточников при больных почках, которая по техническим причинам продолжается от 1 до 3 часов, что болезненно отражается на больном.

### ОЦЕНКА ФУНКЦИИ ПОЧЕК ПО ХИМИЧЕСКОМУ СОСТАВУ КРОВИ

Исследование химического состава крови не потеряло своего значения после разработки описанных способов исследования с нагрузками, хотя водная нагрузка, проба с концентрацией и проба со щелочью иногда открывают более легкие степени почечной недостаточности. Исследования крови не только подтверждают данные, полученные при исследовании



мочи, но и, поскольку состав крови более стабилен, позволяют по величине отклонения от нормальной концентрации того или иного вещества точнее оценить степень расстройства функции почек.

В зависимости от преобладающего поражения клубочков или канальцев, результат исследования крови может быть неодинаков, поэтому целесообразно исследовать концентрацию не одного, а нескольких веществ, обычно выделяемых с мочой.

Наиболее ценными для определения функции почек являются исследования в крови различных азотистых продуктов обмена. Степень задержки безбелкового азота в крови является мерилем почечной недостаточности.

1) **Остаточный азот.** Вся масса азотсодержащих веществ после осаждения белков крови обозначается термином «остаточный азот» (стр. 180). Задержка остаточного азота в крови будет выражена тем сильнее, чем тяжелее расстройство выделительной и концентрационной способности почек. Остаточный азот (RN) крови в норме колеблется в пределах от 20 до 40 мг в 100 см<sup>3</sup> крови. Повышение содержания остаточного азота свыше 40 мг% при наличии болезни почек говорит о нарушении функции почек.

2) **Мочевина** (методика определения см. стр. 354). Мочевина является главной составной частью остаточного азота (50%).

Повышение количества мочевины в крови наблюдается не только при поражениях почек, но иногда и при тяжелых степенях сердечной декомпенсации; правда, непосредственной причиной задержки в крови мочевины и в этих случаях, повидимому, является если не патологоанатомическое изменение, то плохое кровоснабжение почек; количество мочевины может достигать при этом 60—80 мг% и больше. При инфекционных заболеваниях количество мочевины в крови тоже повышается, повидимому, вследствие повышения ее образования, вызванного усиленным распадом клеток. Небольшое повышение концентрации мочевины наблюдается также при потере большого количества жидкости при поносе или обильной рвоте.

Повышение процентного содержания азота мочевины в суммарном остаточном азоте крови удается обнаружить в начальных стадиях нарушения функции почек. Вместо обычных 50% азот мочевины доходит до 90%. Другие азотистые вещества (аминокислоты, креатин, креатинин) задерживаются в крови при более тяжелых нарушениях почек.

3) **Мочевая кислота.** При легких степенях почечной недостаточности повышение концентрации в крови наблюдается только в отношении мочевой кислоты; остальные вещества еще выделяются почкой без задержки. При обратном развитии острого нефрита концентрация мочевой кислоты становится нормальной позднее, чем других веществ. Повышенное количество мочевой кислоты в крови говорит за диффузный характер процесса против очагового, даже если повышение кровяного давления не выражено, и за наличие поражения также нефритического характера против чистого нефроза. Повышение концентрации мочевой кислоты наблюдается не только при злокачественном, но и при доброкачественном склерозе почек; следовательно, вопрос о характере склероза определением мочевой кислоты не разрешается. Переход доброкачественного склероза в злокачественный сопровождается нарастанием в крови количества ароматических веществ. Относительно повышения количества мочевой кислоты при других заболеваниях см. «Мочевина», а также в главе о химическом исследовании крови (аммиак стр. 310, 352, уксуснобелковое тело, стр. 316 и т. д.).

Для более детального анализа недостаточности почек нельзя ограничиваться только этими ингредиентами остаточного азота. В первую очередь следует указать на важность определения индикана крови. Содержание индикана в крови изменяется совершенно иначе, чем мочевины.



При острой недостаточности почек количество индикана повышается очень незначительно или остается почти нормальным даже при высоком содержании остаточного азота, между тем как в случае недостаточности почек при хронических заболеваниях почек количество индикана повышается очень рано, часто даже до недостаточного выведения мочевины. Кроме того, количество индикана гораздо меньше, чем мочевины, зависит от характера питания (стр. 208).

## ОЦЕНКА ФУНКЦИИ ПОЧЕК ПОСРЕДСТВОМ СРАВНЕНИЯ СОСТАВА КРОВИ И МОЧИ.

1) **Константа Амбара.** Попытка оценки работы почек путем сравнения концентрации какой-либо определенной субстанции в крови и моче впервые была сделана Амбаром. Многочисленные определения, касавшиеся главным образом мочевины, привели его к установке так называемой уреосекреторной константы Амбара. Окончательная формула для этой константы следующая:

$$K = \frac{Ur}{V \cdot \frac{D \cdot 10 \cdot \sqrt{C}}{p \cdot 5}}$$

где  $Ur$  означает количество граммов мочевины в крови, вычисленное на 1 000 см<sup>3</sup>,  $D$  — абсолютное количество мочевины, выделенное почками за сутки,  $C$  — содержание мочевины (в граммах) в 1 000 см<sup>3</sup> мочи,  $p$  — вес больного. При нормальных условиях значение этой константы колеблется в весьма небольших пределах — от 0,063 до 0,08, в среднем она соответствует 0,07. При недостаточности почек константа увеличивается в несколько раз; при этом изменение константы иногда наблюдается раньше, чем повышение концентрации мочевины в крови.

Определение константы Амбара во многих случаях дает достаточно ясные указания; однако в случаях полиурии или олигурии заслуживает предпочтения определение мочевиновыделительной функции почек (см. ниже), так как расстройства диуреза вносят ошибку в определение константы.

2) **Определение мочевиновыделительной функции почек — urea clearance test.** Большое распространение за последние годы получил другой способ определения мочевиновыделительной функции почек — так называемый «очищение крови от мочевины» (urea clearance test).

Многочисленные исследования, произведенные на людях и на животных при разнообразных условиях, выяснили некоторые закономерности выделения почками мочевины. Вкратце эти закономерности сводятся к следующему.

При здоровых почках и ненарушенном кровообращении количество мочевины, выделяемой с мочой при интенсивном диурезе, прямо пропорционально количеству мочевины, содержащейся в крови; если почки выделяют не менее 2 см<sup>3</sup> мочи в минуту, то количество мочевины, выделенной почками за этот же срок, соответствует количеству мочевины в определенном объеме крови — около 75 см<sup>3</sup>. Другими словами, 75 см<sup>3</sup> — это то количество крови, которое может быть освобождено от мочевины за 1 минуту работы почки при диурезе не ниже 2 см<sup>3</sup> в минуту (максимальное очищение крови). При менее интенсивном диурезе соотношение несколько сложнее — выделение мочевины также уменьшается, но это уменьшение в среднем пропорционально квадратному корню из уменьшения количества выделенной мочи: т. е. если диурез меньше в 4 раза



где  $C_{st}$  означает количество крови, очищаемое от мочевины в 1 минуту, а остальные величины имеют то же значение, что и в предыдущей формуле. Как было указано выше, при нормальных условиях  $C_m = 75 \text{ см}^3$ ,  $C_{st} = 54 \text{ см}^3$ ; с этими величинами и сравнивают полученные данные. Более наглядные результаты получаются, если ответ выражают в процентах к средней нормальной величине  $C_m$  и  $C_{st}$ : количество мочевины, выделенное при среднем диурезе и вычисленное по формуле для  $C_{st}$ , можно непосредственно сравнить с количеством мочевины, выделенным при повышенном диурезе и вычисленным по формуле для  $C_m$ , и, кроме того, выраженные в процентах данные прямо указывают объем сохранившейся почечной функции. Для получения ответа в процентах полученную для  $C_m$  абсолютную величину делят на среднюю величину, т. е. 75, и умножают на 100; точно так же при вычислении по формуле  $C_{st}$  делят полученную абсолютную величину на 54 и умножают на 100; или, проще, умножают в первом случае  $\frac{U \cdot V}{B}$  на  $\frac{100}{75}$ , что дает 1,33; во втором случае умножают  $\frac{U \cdot V}{B}$  на  $\frac{100}{54}$ , что дает 1,85. Чтобы не вычислять каждый раз квадратного корня из  $V$ , пользуются табл. 45.

Таблица 45

$V \text{ см}^3$ в 1 минуту	$\sqrt{V}$	$V \text{ см}^3$ в 1 минуту	$\sqrt{V}$
0,2	0,45	1,2	1,10
0,3	0,55	1,3	1,14
0,4	0,63	1,4	1,18
0,5	0,71	1,5	1,23
0,6	0,78	1,6	1,27
0,7	0,83	1,7	1,30
0,8	0,89	1,8	1,38
0,9	0,95	1,9	1,38
1,0	1,00	2,0	1,42
1,1	1,05	2,1	1,45

**Пример вычисления:**

$B$  (мочевина в крови) = 50 мг%.  $U$  (мочевина в моче) = 1500 мг%. Количество мочи, выделенной за 1 час, равняется 140 см<sup>3</sup>, откуда  $V = 2,3 \text{ см}^3$ . Следовательно, вычисление должно быть произведено по первой формуле:

$$C_m = \frac{U \cdot V}{B} = \frac{1500 \cdot 2,3}{50} = 69 \text{ см}^3,$$

а в процентах к среднему количеству крови, очищаемому в течение 1 минуты от мочевины:

$$1,33 \times 69 = 91,77\%.$$

Для детей, а также для лиц, рост которых резко отличается от среднего, необходимо внести поправку на величину поверхности тела в квадратных сантиметрах. Для среднего роста эта величина равна 1,73. Найденную величину, безразлично, в формуле для  $C_m$  или для  $C_{st}$ , нужно умножить на  $\frac{1,73}{\text{поверхность в см}^2}$ . Величину этой поправки можно с достаточной точностью вычислить по стандартам, данным на рис. 156, где указана величина  $\frac{1,73}{A}$  ( $A$  — поверхность тела в см<sup>2</sup>) для каждого роста в сантиметрах для различных возрастов.



Для  $C_m$  нормальными считают величины от 60 до 95  $\text{см}^3$  (80—120%); для  $C_{st}$  — от 40 до 65 (75—120%).

3) **Креатининовая проба Реберга.** Одной из функциональных проб, позволяющих определять отдельно величину клубочковой фильтрации и канальцевой реабсорбции, является креатининовая проба Реберга.

Основу этой пробы составляет положение, что креатинин относится к беспороговым веществам, т. е., выделяясь только клубочками, не всасывается обратно канальцами. Реберг предложил весьма простой способ определения величины клубочковой фильтрации ( $F$ ) и канальцевой реабсорбции ( $R$ ) на основании концентрационного индекса по отношению к креатинину ( $C_{kr}$ ) и величины диуреза за определенный отрезок времени.

После нагрузки пер ос креатинином в количестве 3—5 г, обеспечивающей для всех случаев достаточную для точного колориметрического определения степень креатининемии, собирают мочу точно за час (или за 50—70 и т. д. минут, но точно учитывая каждый раз длительность опытного периода, при необходимости катетеризируя больного до начала и после окончания опыта) и в середине этого отрезка времени берут кровь из вены и определяют креатинин; затем определяют количество мочи, концентрацию в ней креатинина и концентрационный индекс креатинина:

$$C_{kr} = \frac{Cr \text{ мочи в мг\%}}{Cr \text{ крови в мг\%}}$$

и диурез за минуту ( $U$ ).

Величина клубочковой фильтрации за минуту (минутная фильтрация) определяется по формуле:

$$F = C_{kr} \times U.$$

Канальцевая реабсорбция определяется в процентах фильтрата по формуле:

$$R = \frac{(F - U) \times 100}{F}.$$

Пример креатининовой пробы у здорового лица: мочи за час — 90  $\text{см}^3$ , за минуту — 1,5  $\text{см}^3$ ; креатинин мочи — 420 мг%; креатинин крови после приема 3 г креатинина внутрь — 6 мг%.

Концентрационный индекс  $\frac{420}{6}$ ;

$$F = 70 \times 1,5 = 105.$$

Число кубических сантиметров провизорной мочи, реабсорбированной в канальцах:

$$F - U = 105 - 1,5 = 103,5.$$

$R$  — процент реабсорбированной в канальцах провизорной мочи.

$$\frac{(F - U) \times 100}{F} = \frac{103,5 \times 100}{105} = 98,5\%.$$

Величина креатининовой нагрузки колеблется у различных авторов в пределах 1,0—3,0—5,0—10,0. Некоторые авторы считают возможным ставить эту пробу без нагрузки креатинином, получая в контрольных опытах равнозначные результаты (Тареев).

Несмотря на значительный теоретический интерес, практическое значение креатининовой пробы Реберга, особенно как метода ранней диагностики почечной недостаточности, еще не может считаться окончательно установленным. Эта проба если и имеет значение, то лишь для установления топки нарушения функции почек, т. е. отдельной оценки клубочковой и канальцевой функции.



4) Очищение крови от чужеродных веществ (инулин — clearance tes'). Установлено, что растворимый полисахарид инулин выводится из крови исключительно путем фильтрования через клубочки и совершенно не реабсорбируется канальцами. Следовательно, объем плазмы, очищаемой от инулина в каждую минуту, может считаться равным величине фильтрации в клубочках.

Необходимо для этой пробы поместить больного в стационар, где он должен соблюдать полный покой. Через час после небольшого завтрака (кусочек хлеба с маслом и полстакана молока) испытуемому дают сразу выпить около 1 л воды и до окончания исследования каждые полчаса

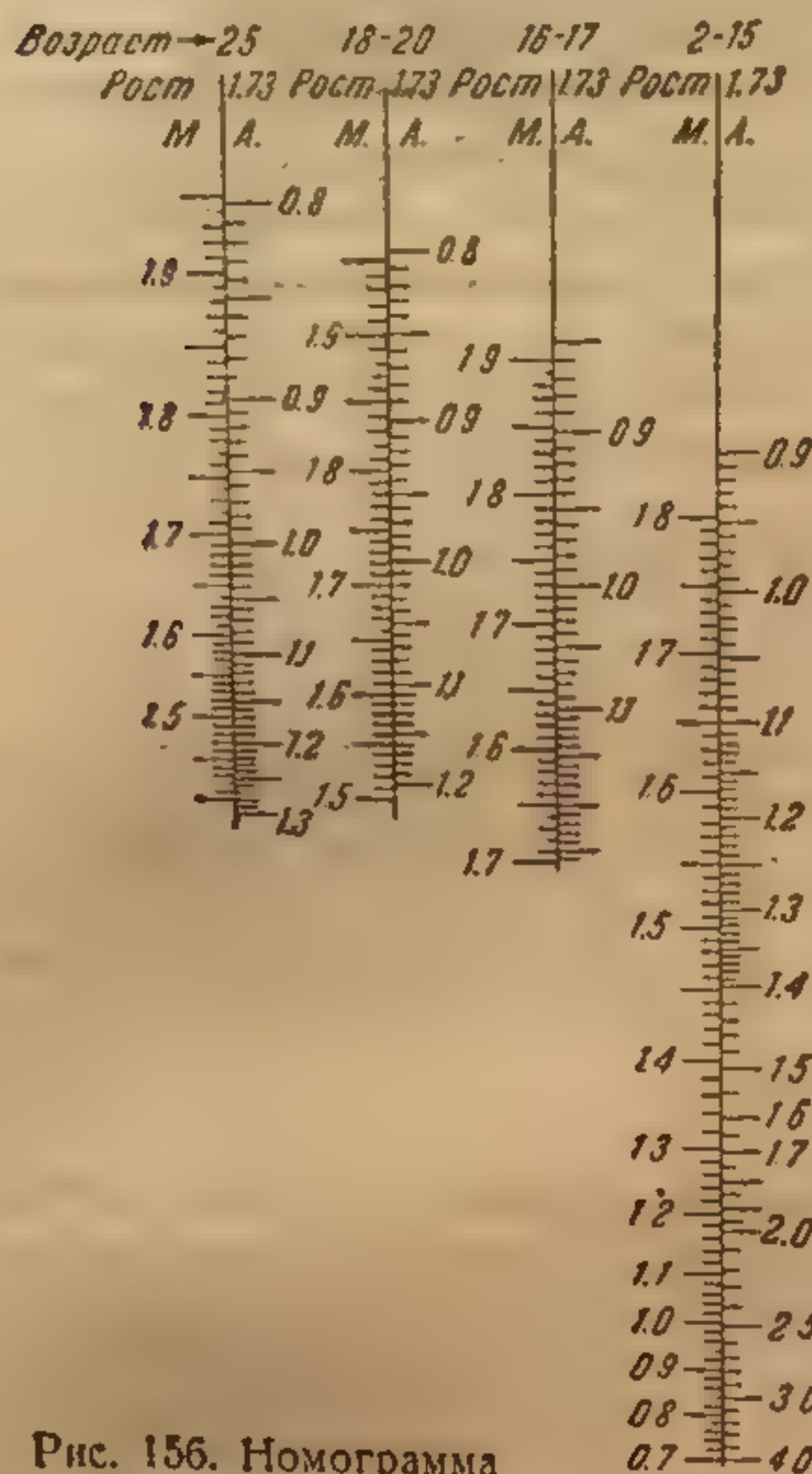


Рис. 156. Номограмма для вычисления поправки на рост.

ной реакцией (см. ниже). В контрольной крови и моче проделывают ту же реакцию, чтобы внести поправку при расчете (бывает слабая реакция от наличия некоторых веществ).

Далее, вычисляют степень очищения ( $K$ ) по формуле:

$$K = \frac{UV}{P},$$

где  $U$  — количество инулина мочи в  $\text{мг}\%$ ,  $V$  — количество мочи, выделенной в 1 минуту,  $P$  — количество инулина плазмы в  $\text{мг}\%$  (средняя величина из двух определений). Дальнейшее вычисление проводится, принимая во внимание возраст, рост и вес испытуемого (см. таблицы для вычисления основного обмена) на  $1 \text{ м}^2$  поверхности тела; при правильном телосложении это составит около  $1,73 \text{ м}^2$  (см. рис. 156). Величина очищения плазмы от инулина ( $K$ ) в норме равна  $120 \text{ см}^3$  в минуту (или  $70 \text{ см}^3$  на  $1 \text{ м}^2$ ). Эта величина слегка понижена при нефрозе и в большей степени при подострых и острых геморрагических нефритах. При хронических нефритах понижение очень резкое — до  $20 \text{ см}^3$ .



Техника определения инулина в плазме и моче. Принцип определения основан на получении ясно синего окрашивания, которое развивается от смешения инулина со спиртовым раствором дифениламина при резко кислой реакции. Слабое окрашивание получается также с глюкозой и фруктозой, для чего следует перед определением подвергнуть брожению с дрожжами плазму или вычитать соответствующую окраску слепого опыта.

Реактивы: 1) растворяют 10 г чистого дифениламина в перегнанном абсолютном спирте и доводят до объема 100 см<sup>3</sup>; это основной раствор, который следует держать в темной склянке; 1а) смешивают 80 см<sup>3</sup> чистой концентрированной HCl с абсолютным редестиллированным спиртом и к этому раствору добавляют 12 см<sup>3</sup> основного реактива (1); хранить в темной склянке; годен не более недели; 2) кислый раствор сернокислого кадмия: 13 г чистого  $3 \text{ CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$  растворяют в воде, затем добавляют 63,5 см<sup>3</sup>  $\text{N H}_2\text{SO}_4$  и, добавляя дистиллированной воды, доводят объем до 1 л; или 2а) осаждение белков сернокислым цинком: а)  $\text{ZnSO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ , б)  $\text{NaOH } 1/10$ . Ход осаждения: в пробирку наливают 1 объем оксалатной крови и 2 объема воды, хорошо взбалтывают и добавляют осторожно по каплям 1 объем сернокислого цинка (а), хорошо перемешивая; туда же по каплям добавляют 1 объем  $\text{NaOH}$  (б); хорошо перемешивают, оставляют стоять 15 минут и центрифугируют; в полученном прозрачном бесцветном центрифугате определяют инулин; 3) 1,1 N раствор  $\text{NaOH}$ ; 4) основной раствор инулина; высушивают чистый инулин при 80° или 100° в течение часа, охлаждают в эксикаторе, откуда берут 1 г и разводят его в 1 л воды; 5) стандарт № 1; разводят 5 см<sup>3</sup> основного раствора инулина в литровой колбе водой до метки; 6) стандарт № 2; разводят 10 см<sup>3</sup> основного раствора в литровой колбе водой до метки.

Ход определения. Удаление глюкозы из плазмы проводится следующим образом: 5 или 10 см<sup>3</sup> плазмы или сыворотки помещают в центрифужную пробирку и туда же добавляют 0,5—1 см<sup>3</sup> отмытой взвеси дрожжевых клеток, хорошо смешивают и ставят в термостат при температуре 38° на 30 минут. Центрифугируют на быстрой центрифуге 15 минут и снимают пипеткой сверху опалесцирующую жидкость (добавление объема дрожжей учитывают при пересчете).

Получение окраски достигается таким образом: к 1 объему испытуемого вещества добавляют 8 объемов раствора кадмия (2) или цинка (2а) и 1 объем 1,1N  $\text{NaOH}$  и хорошо смешивают. После стояния в течение 15 минут фильтруют (если содержится много инулина, разводят водой в определенной пропорции). В тугоплавкую пробирку с хорошо притертой пробкой берут 5 см<sup>3</sup> этого фильтрата и добавляют 10 см<sup>3</sup> раствора дифениламина (1 а); хорошо взбалтывают, чтобы растворился получившийся осадок, плотно закупоривают пробирки и помещают в хорошо кипящую баню (можно пользоваться обратным холодильником) на 1 час. Удобное приспособление для обратного холодильника при малых количествах реактивных смесей состоит в следующем: кипятят в длинных пробирках (25 × 3 см); в эту пробирку вставляют центрифужку при помощи

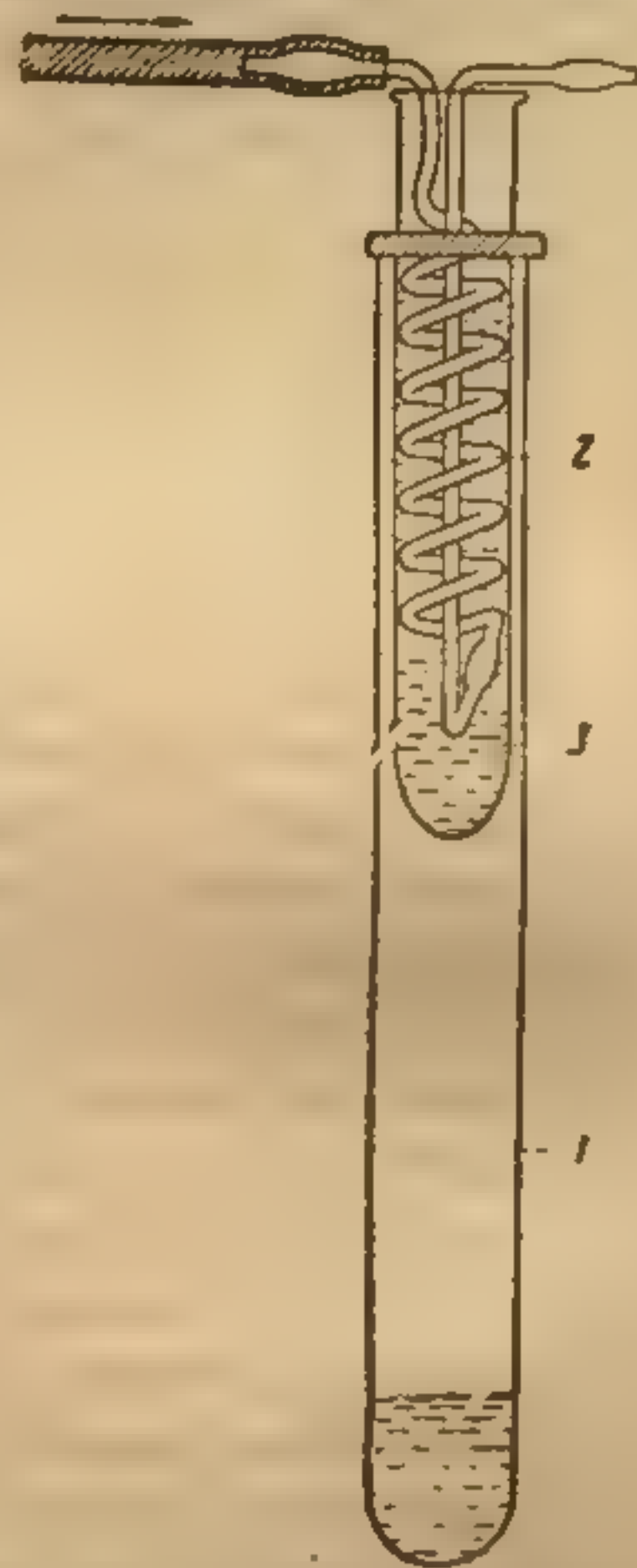


Рис. 157. Обратный холодильник.



надетого на нее резинового кольца (отрезок от резиновой трубки). В центрифужку наливают воду, опускают в нее стеклянную спиральную трубку, через которую протекает вода из бутылки, куда бросают кусочки льда. Таким образом, в центрифужке все время циркулирует холодная вода, и пары кипящей смеси все время охлаждаются и стекают обратно (модель И. А. Ициксона, рис. 157). Затем быстро охлаждают жидкость до комнатной температуры и держат в течение 10 минут, после чего колориметрируют. Для колориметрирования пользуются стандартами № 1 или 2, в зависимости от интенсивности окраски. Вычисление проводится по обычным правилам колориметрирования или по заготовленной заранее кривой.

При фотометрии (стр. 146) в контрольный сосуд наливают жидкость пустого опыта. Определение проводится с красным фильтром (S 61). Концентрация, принимая во внимание разведение и окраску пустых опытов, высчитывается по заранее заготовленной кривой.

## ГЛАВА ШЕСТАЯ

### ГОРМОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МОЧИ

#### БИОЛОГИЧЕСКОЕ РАСПОЗНАВАНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ ПО АШГЕЙМ-ЦОНДЕКУ

С первых дней беременности в крови и моче у женщин появляется большое количество так называемых гонадотропных гормонов, влияющих на яичник в двух направлениях, вызывающих: 1) морфологическое изменение яичника и 2) усиление его внутрисекреторной деятельности. Местом образования этих гормонов является хорионидная ткань.

а) **Проба на мышах.** Для обнаружения в моче повышенного количества гормона в широкой лабораторной практике пользуются неполовозрелыми мышами. В яичниках таких мышей, помещенных между двумя предметными стеклами и осторожно сдавленных, при малом увеличении (в 60—80 раз) легко обнаружить мелкие пузырьки (фолликулы) несколько меньшего размера по периферии и несколько большего в середине; в центре их большей частью имеется яйцо, но никогда нет полости и яйценосного бугорка. Моча беременных вызывает в яичниках три рода изменений: 1) увеличение фолликулов и появление крупных фолликулов с полостью и яйценосным бугорком; 2) появление крупных фолликулов, наполненных кровью (кровяные точки); 3) появление атретических желтых тел. Только два последних изменения служат для распознавания беременности, тогда как нахождение увеличенных фолликулов является непоказательным (см. ниже).

Как было указано, повышенное количество гонадотропных гормонов стимулирует и внутрисекреторную деятельность яичников. Эти овариальные гормоны в свою очередь вызывают изменения в половых органах неполовозрелых мышей. Эпителий влагалища становится многослойным, причем верхний слой состоит из ороговогого пластинчатого эпителия. Соскоб с влагалища в этом состоянии дает вместо обычного небольшого количества слизи и единичных лейкоцитов и клеток цилиндрического эпителия большое количество безъядерных ороговых клеток. Далее, оба рога матки оказываются значительно увеличенными в размере и гиперемизированными. Оба последних изменения тоже считаются сомнительным признаком, требующим повторного исследования мочи.



Техника исследования. Для каждого исследования берут не менее 5 мышей, так как не все животные выживают и дают ясную реакцию, иногда характерные изменения вызываются только у двух или даже у одной мыши; но этого уже достаточно для распознавания беременности. Мыши должны быть 3-4-х-недельного возраста, весом 6—8 г (лучше более тяжелые, так как среди них меньше смертность).

Чтобы отличить самку от самца в этом возрасте, необходим некоторый опыт: самку узнают по более короткой и менее покрытой волосами, чем у самца, промежности (расстояние между задним проходом и половым отверстием). Часто у самок заметны уже грудные железы. Мышей держат в стеклянных банках, закрытых крышкой с отверстиями; на дно кладут немного торфяного порошка. Кормят их размоченным в воде белым хлебом и крупой. Моча женщины должна быть свежесвыпущенной, поэтому ее посылают в лабораторию тотчас после выделения; никаких дезинфицирующих средств не прибавляют. Длительное хранение мочи при комнатной температуре уменьшает активность искомого гормона и может служить причиной ошибочного отрицательного результата. Замораживание мочи не отражается на результате реакции. Выделение в моче лекарств, принимаемых больной (беременной), тоже не мешает исследованию. Так как концентрация гормона в моче тем больше, чем выше удельный вес, то пользуются только утренней мочой, причем рекомендуется женщине с вечера ничего не пить и не есть жидкой пищи.

Если свежесвыпущенная моча прозрачная и кислой реакции, то ее вводят мышам без предварительной обработки. Если же моча мутноватая или мутная, то ее ставят на 1—1½ часа в ледник для выделения уратов, затем фильтруют в делительную воронку, прибавляют 3—4-кратное количество эфира для наркоза и тщательно встряхивают в течение 5 минут. Мочу сливают в чашку Петри и оставляют стоять в течение часа для полного испарения следов эфира. Испытывают реакцию мочи на лакмус; если нужно, слегка подкисляют ее 10% уксусной кислотой. На всем протяжении опыта мочу хранят в леднике.

Каждая мышь получает 6 инъекций испытуемой мочи. Впрыскивают мочу 2 раза в день (интервал между впрыскиваниями должен быть не менее 5 часов) по 0,3 см³ в течение 3 дней; на 4-й день впрыскивания не производят; на 5-й день, т. е. спустя 96—100 часов после первого впрыскивания, животных убивают хлороформом и вскрывают, но предварительно делают мазок из влагалища.

Техника впрыскивания. Животное держат в левой руке, захватывая III и IV пальцами хвост у корня, а большим и указательным приподнимая в складку кожу на шее. Правой рукой делают укол в эту складку.

Техника вскрытия. Животное фиксируют на деревянной доске булавками за 4 лапки. Маленькими ножницами и пинцетом вскрывают брюшную полость по средней линии. Кишки вынимают и отодвигают кверху; прямую кишку захватывают пинцетом и перерезают у нижнего конца. После этого срезают всю верхнюю половину туловища поперек выше почек и фиксируют нижнюю половину булавками. При этом становятся видными оба рога матки; при отрицательном результате опыта они имеют вид беловатых нитевидных тяжиков, а в положительных случаях сильно увеличены, гиперемированы и наполнены жидкостью. Яичники расположены под нижним полюсом почек; каждую почку в отдельности приподнимают пинцетом и осторожно отделяют от яичников. При этом уже невооруженным глазом (а лучше при помощи лупы) видны кровяные точки и атретические желтые тела (рис. 158 и 159). Если при та-



ком осмолре изменений не видно, то яичник срезают, кладут на предметное стекло в каплю глицерина, слегка придавливают вторым предметным стеклом и рассматривают в микроскоп при малом увеличении. При этом ясно видны фолликулы и заключенные в них яйца. Убеждаются в присутствии увеличенных фолликулов и атретических желтых тел, которые имеют вид увеличенных и сильно потемневших фолликулов; яиц в них обычно не содержится; нормальные фолликулы светлые и прозрачные (рис. 160).

Положительным результат считается только в том случае, если обнаружены кровяные точки и атретические желтые тела (рис. 161). Достаточно, если положительная реакция обнаружена хотя бы у одного из животных. Наличие увеличенных фолликулов и рогов матки считается сомнительным результатом, требующим проверки.

Подобная реакция может наблюдаться как переходная от отрицательной к положительной в первые дни беременности или же обратно—от положительной к отрицательной в случае аборта. У женщины в детородном возрасте (непреклимактерическом), совершенно здоровой в половом отношении и не страдающей каким-либо явным расстройством эндокринного равновесия, можно даже на основании подобной реакции диагностировать беременность с большой степенью вероятности. При наличии клинических признаков внематочной беременности такая реакция подтверждает диагноз.

Начиная с 8-го дня беременности, реакция дает правильный результат в 98% случаев и, следовательно, вполне заслуживает доверия; необходимо помнить, что при мертвом плоде получается отрицательный результат. Однако во второй половине беременности количество выделенного с мочой гормона значительно уменьшается и может стать перемежающимся. Следовательно, в это время нельзя на основании ставшей отрицательной реакции диагностировать смерть плода.

б) Проба на кроликах. Главный недостаток описанной реакции заключается в том, что тот или иной ответ получается только через 100 часов. Если необходимо экстренное вмешательство, то нельзя ждать ответа так долго. Несомненным преимуществом в этом отношении обладает аналогичная гормональная реакция на кроликах; кроме того, с более крупными животными вообще легче работать. Отрицательной стороной реакции на кроликах является ее несколько меньшая точность: она дает положительный результат в 93% случаев.

Пользуются самками весом 1,8—3,5 кг. Перед опытом их выдерживают в течение 3 недель в отдельных клетках. Мочу, если она не содержит явного бактериального загрязнения, можно не обезвреживать эфиром, так как кролики переносят ее значительно лучше, чем мыши.

В остальном мочу обрабатывают так же, как описано выше. Вливают в ушную вену 10 см<sup>3</sup> мочи; если удельный вес ее очень низкий, то спустя 3—4 часа повторяют впрыскивание. Через 48 часов производят лапаротомию и осматривают половые органы. В случае положительной реакции наблюдаются те же явления, как и у мышей.

При отрицательной реакции можно одним и тем же животным пользоваться 3—4 раза с промежутком каждый раз не менее 8 дней. Положительная реакция тоже не исключает возможности использования животного в дальнейшем, так как следы старого кровоизлияния и желтого тела легко отличить.

Реакция Ашгейм-Цондека с разведенной мочой. При некоторых заболеваниях (хорион-эпителиомах, пузырьном заносе) необхо-



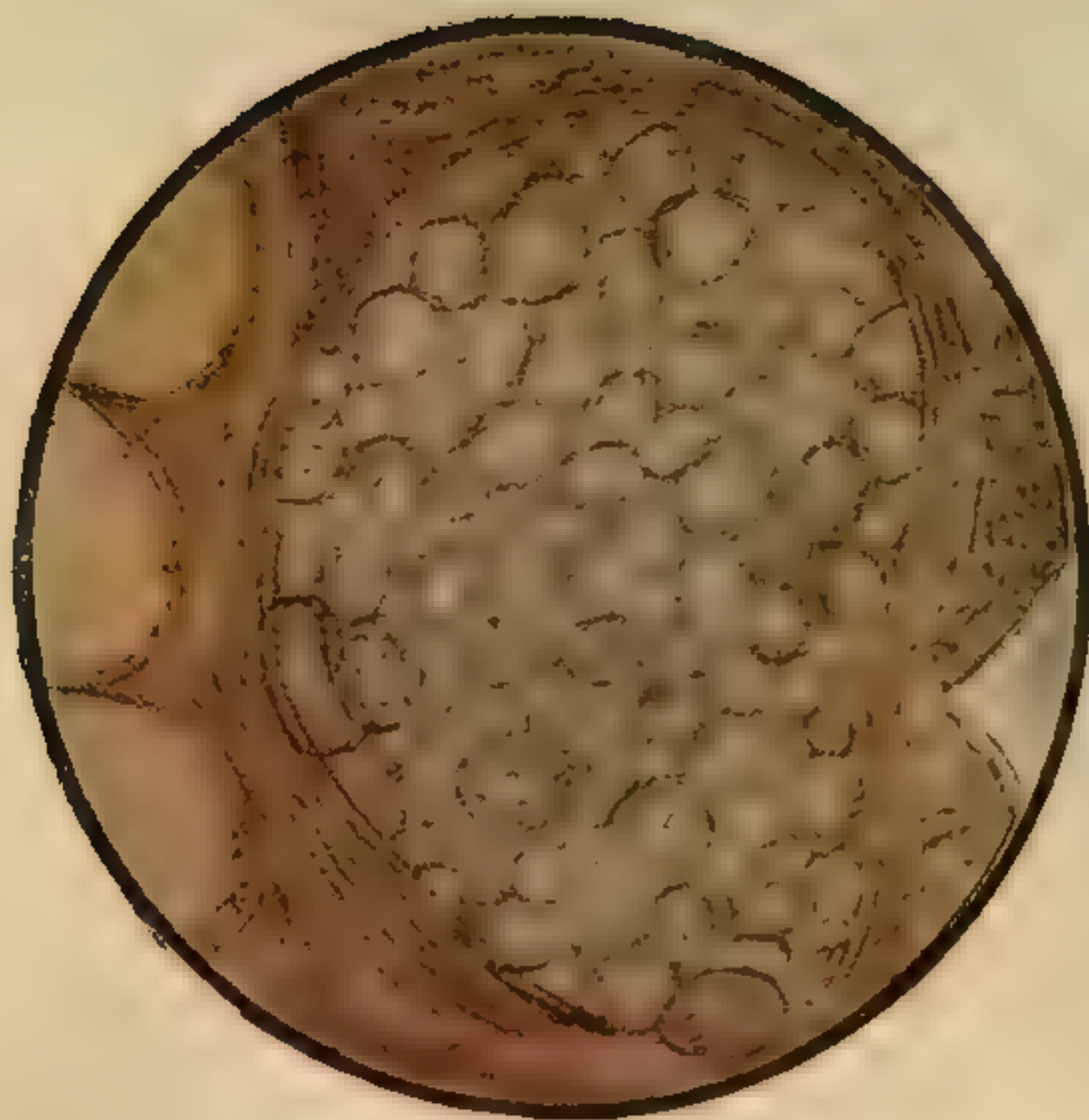


Рис. 158. Нормальные фолликулы  
мышы.



Рис. 159. Микроскопическая картина  
положительной реакции Ашгейм-  
Цондека.

Три кровяные точки; один атретический  
фолликул.





Рис. 160. Отрицательная реакция Ашгейм-Цондека.



Рис. 161. Положительная реакция Ашгейм-Цондека.

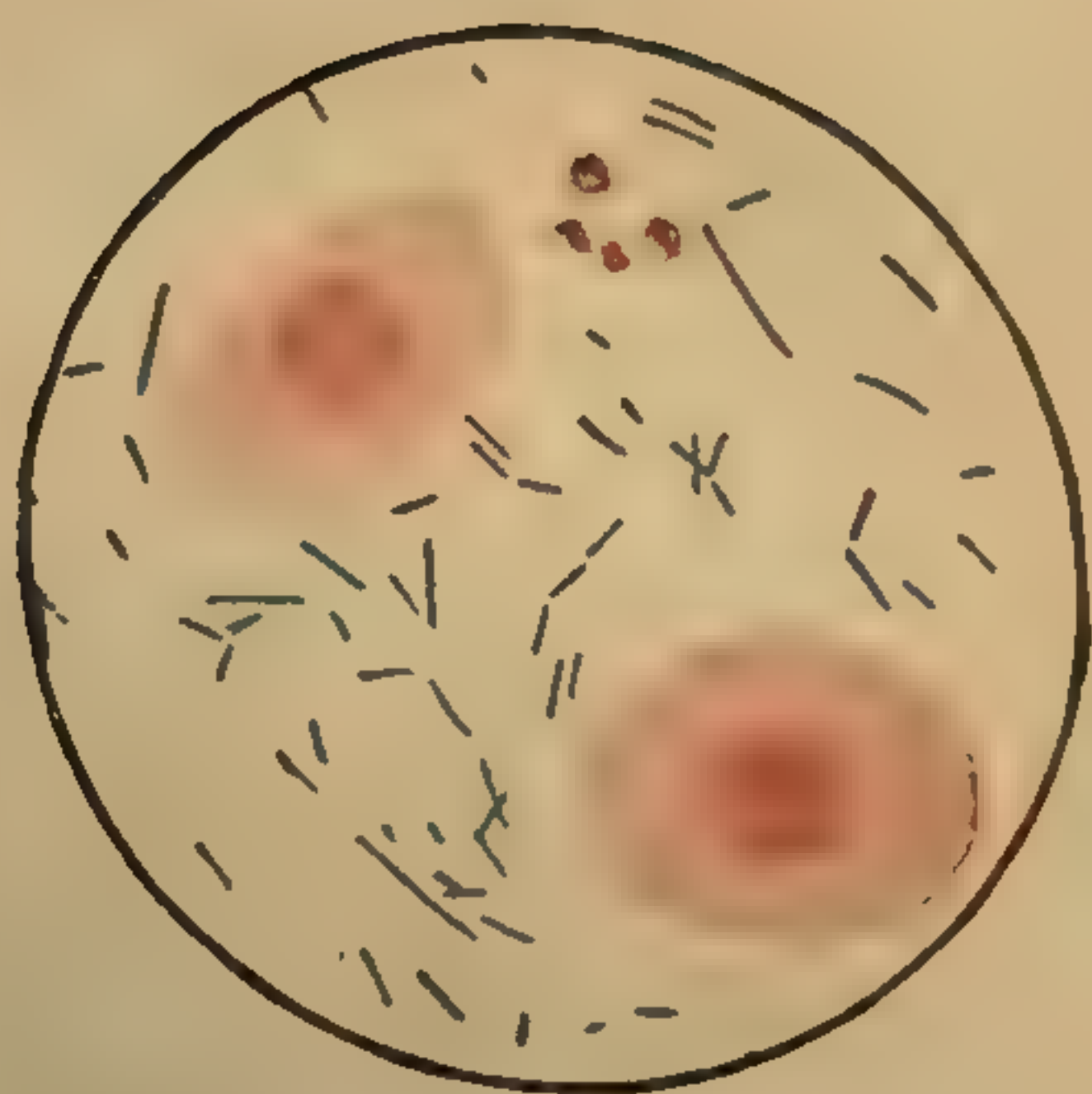


Рис. 162. Палочки Дедерлейна в нормальном отделяемом влагалища. Окраска по Граму.



можно следить за нарастанием количества гормона. В таких случаях реакцию Ашгейм-Цондека ставят с разведенной мочой. Разводят мочу дистиллированной водой в 10, 20, 50 и 100 раз. Затем одновременно пробу с каждым из разведений проводят так же, как и пробу с неразведенной мочой. Результаты определяются как обычно. Попутно для контроля необходимо проводить это же исследование с цельной, неразведенной мочой.

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГОНАДОТРОПНЫХ ГОРМОНОВ.

У мужчин и женщин (вне беременности) с мочой выделяется небольшое количество гонадотропных гормонов, местом образования которых является передняя доля гипофиза. При некоторых заболеваниях, например, злокачественных опухолях половых желез, некоторых эндокринных заболеваниях и у женщин в климактерическом периоде выделение гонадотропных гормонов с мочой повышается. Определение повышенного количества гонадотропных гормонов в моче может иметь диагностическую ценность. Количество гонадотропных гормонов в 1 л мочи здоровых мужчин бывает меньше 10 мышинных единиц, а у женщин — меньше 50 мышинных единиц.

Принцип этого исследования основан на осаждении спиртом гонадотропных гормонов в моче и введении их инфантильным мышам; в случае наличия гормонов наблюдаются изменения в яичниках.

Техника исследования. К 60 см<sup>3</sup> свежесобранной утренней мочи кислой реакции или подкисленной уксусной кислотой приливают 300 см<sup>3</sup> 96° спирта, смешивают встряхиванием и оставляют не менее чем на 24 часа при комнатной температуре; при этом спирт осаждает гормоны. После этого спирт отсасывают, а осадок сливают в центрифужную пробирку емкостью в 50 см<sup>3</sup>. Пробирку с осадком центрифугируют 5—10 минут, верхний жидкий слой сливают; затем на осадок наливают около 30 см<sup>3</sup> спирта, размешивают осадок стеклянной палочкой, вторично центрифугируют, спирт сливают, наливают на осадок около 30 см<sup>3</sup> эфира, размешивают и центрифугируют. Промывание осадка эфиром повторяют 2 раза, при этом эфир извлекает эстрогены (фолликулярные гормоны). Пробирку с промытым осадком помещают в эксикатор до следующего дня (на 12—18 часов) — до полного испарения эфира.

На следующий день на осадок накладывают 8 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, тщательно размешивают в ней осадок и оставляют на 18—24 часа для извлечения гормонов. Извлечение должно продолжаться не дольше 24 часов. К экстрагированию водой приступают лишь в том случае, если дальнейшая обработка водного экстракта возможна на следующий день; в противном случае экстрагирование нужно отложить.

Водный экстракт центрифугируют, сливают с осадка в чистую пробирку и вводят трем инфантильным мышам по 0,6 см<sup>3</sup> 2 раза в день в течение 2 дней (интервал между впрыскиваниями должен быть не меньше 5 часов). На 3-й и 4-й день впрыскивания не производят, а на 5-й день, т. е. через 100 часов после начала впрыскивания, мышей убивают и вскрывают.

В положительных случаях наблюдается увеличение веса яичников до 5—6 мг (вес яичника в норме 2—3 мг). Взвешивание яичников рекомендуется производить на крутильных весах Банга. В яичнике видны увеличенные фолликулы (желтых тел и кровоизлияний обычно не бывает). Кроме того, обычно наблюдается открытие влагалища, в вагинальном мазке обнаруживается картина течки. Матка гиперемирована и увеличена в размерах. Положительная реакция указывает на наличие гонадотропных



гормонов в количестве 50 мышинных единиц и выше в 1 л исследуемой мочи.

Отрицательный результат при постановке этой реакции нельзя трактовать как безусловное отсутствие злокачественного новообразования.

Описанный метод применим для определения гонадотропных гормонов в концентрации 50 мышинных единиц и выше в 1 л. Для определения меньших концентраций нужно брать большие количества мочи (120 или 300 см<sup>3</sup>), осаждают их пятикратным объемом спирта и в дальнейшем вести реакцию, как описано выше. Таким способом удастся определить концентрации в 25 мышинных единиц (при осаждении 120 см<sup>3</sup> мочи) и 10 мышинных единиц в 1 л. (при осаждении 300 см<sup>3</sup> мочи).

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРЕГНАНДИОЛА ПО ГУТЕРМАНУ В ВИДОИЗМЕНЕНИИ Г. В. ОРДЫНЕЦ<sup>1</sup>

Прегнандиол представляет собой продукт восстановления гормона желтого тела. Он появляется в моче здоровой женщины через 1—2 суток после овуляции и исчезает за 1—3 суток до начала менструации. В первые 3 месяца беременности содержание его в моче мало увеличено; оно резко возрастает, начиная с 4-го месяца. Определение прегнандиола может быть использовано для оценки функции желтого тела вне беременности и в раннем ее периоде и помогает установить показания для лечебного применения препаратов желтого тела. Для раннего распознавания беременности может быть использован только положительный результат, так как отрицательный результат не доказателен. Если определение производят вне беременности, то для исследования берут мочу в период лютеиновой фазы, т. е. за несколько дней до менструации.

Принцип реакции. После предварительного гидролиза, очищения от примесей и изолирования из мочи прегнандиола приливают к нему крепкую серную кислоту, под влиянием которой, повидимому, происходит окисление входящей в его состав альдегидной группы в кетонную, причем получается окрашенное соединение. Определение требует большой тщательности.

Реактивы: 1) химически чистый толуол; 2) химически чистая крепкая серная кислота; 3) едкий натр п/10; 4) едкий натр 20% в метиловом алкоголе; 5) алкоголь этиловый; 6) ацетон. Все реактивы должны быть высшего качества.

Оборудование: 1) колба плоскодонная емкостью около 500 см<sup>3</sup>; 2) колбы Эрленмейера на 50—100 и 150 см<sup>3</sup>; 3) делительная воронка цилиндрическая емкостью около 150—200 см<sup>3</sup>; 4) стеклянный фильтр средней пористости (шоттовский фильтр № 4); 5) холодильник; 6) короткая толстостенная пробирка емкостью 25—40 см<sup>3</sup>; 7) водоструйный насос; 8) мерительные пипетки; 9) мерительные цилиндры на 20, 50 и 100 см<sup>3</sup>; 10) мелкие стеклянные бусы.

Ход определения. Метод распадается на ряд моментов. 1. Гидролиз и экстракция прегнандиола. В плоскодонную колбу емкостью около 0,5 л вливают 100 см<sup>3</sup> свежевыпущенной утренней мочи и прибавляют 50 см<sup>3</sup> толуола, 10 см<sup>3</sup> крепкой серной кислоты и 2 стеклянные бусинки. Все вместе взбалтывают. Колбу соединяют с обратным холодильником и осторожно кипятят 15 минут. Охлаждают содержимое колбы под струей водопроводной воды, по возможности не взбалтывая. Охлажденную смесь переливают в цилиндрическую делительную воронку

<sup>1</sup> Преображенский А. П. и Ордынец Г. В., Акушерство и гинекология, № 6, 1947.



соответствующей емкости, дают жидкостям полностью расслоиться, после чего нижний слой отбрасывают. Оставшийся в делительной воронке слой толуола промывают дважды 15 см<sup>3</sup> п/10 NaOH и дважды 15 см<sup>3</sup> дистиллированной воды.

2. Осаждение примесей. Промытый толуол сливают в эрленмейеровскую колбу емкостью 100—150 см<sup>3</sup>, прибавляют 2 бусинки и осторожно кипятят до получения половины первоначального объема. Если кипячение производят на электрической плитке, то плитку предварительно выключают во избежание выбрасывания толуола (выпаривание в дальнейшем производят таким же образом). Прибавляют постепенно 10 см<sup>3</sup> 2% раствора едкого натра (NaOH) в метиловом алкоголе (4). Выпаривают (на выключенной плитке) до появления зернистого осадка. Фильтруют в горячем виде через стеклянный фильтр в небольшую бунзеновскую склянку, соединенную с водоструйным насосом. Фильтрат должен иметь желтый или желтовато-зеленый цвет; если он имеет оранжевый, розовый или коричневатый оттенок, то осаждение примесей нужно повторить. На осадок, оставшийся на фильтре, наливают 15 см<sup>3</sup> горячего толуола, который фильтруется в ту же бунзеновскую склянку; соединенные фильтраты, содержащие прегнандиол в растворе, сливают в эрленмейеровскую колбочку (емкостью в 50—100 см<sup>3</sup>), прибавляют 2 бусинки и осторожно выпаривают досуха.

3. Осаждение прегнандиола. К сухому прегнандиолу приливают 5 см<sup>3</sup> ацетона, смесь слегка нагревают; при этом осадок быстро растворяется, после чего к этому раствору, оставляя его на горячей выключенной плитке, медленно прибавляют 20 см<sup>3</sup> п/10 NaOH; при этом прегнандиол осаждается. Колбочку охлаждают, поставив ее в ледяную воду или в ледник на 1 час.

4. Изолирование прегнандиола. Охлажденную смесь фильтруют таким способом, как было указано выше, промывают осадок на фильтре 10 см<sup>3</sup> горячей дистиллированной воды. Дав воде стечь, переставляют фильтр с осадком в чистую склянку Бунзена, соединенную с водоструйным насосом. Наливают на осадок 10 см<sup>3</sup> горячего этилового алкоголя. Осадок растворяется, и спиртовой раствор прегнандиола профильтровывают в бунзеновскую склянку. Его переливают в короткую толстостенную пробирку емкостью 25—40 см<sup>3</sup> и осторожно выпаривают на водяной бане досуха. Для ускорения выпаривания пробирку соединяют с водоструйным насосом.

5. Цветная реакция. К сухому остатку медленно приливают 10 см<sup>3</sup> крепкой серной кислоты и следят за появляющейся окраской. Светложелтая окраска рассматривается как отрицательная реакция, оранжевая и оранжево-коричневая — как положительная.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРЕГНАНДИОЛА В МОДИФИКАЦИИ А. М. ОЛЫШАНЕЦКОГО И Г. М. ЭПЕЛЬБАУМА<sup>1</sup>

Реактивы те же, что в предыдущем методе; нужна еще крепкая соляная кислота.

Ход определения. В обыкновенную плоскодонную колбу емкостью 500 см<sup>3</sup> вводят 100 см<sup>3</sup> испытуемой мочи, добавляют 50 см<sup>3</sup> химически чистого толуола и 10 см<sup>3</sup> соляной кислоты. Колбу соединяют с вертикальным шаровидным холодильником и содержимое колбы кипятят на

<sup>1</sup> Врачебное дело, № 4, 1947.



электрической плитке в течение 15 минут (в колбу рекомендуется положить несколько стеклянных бусинок). После 15-минутного кипячения смесь охлаждают и переносят в цилиндрическую делительную воронку. В воронке образуется два слоя; нижний слой спускают, а верхний, толуоловый, промывают сначала децинормальным раствором едкого натра (2—3 раза) до получения в промывной жидкости щелочной реакции, а затем дистиллированной водой (2—3 раза).

Промытый толуол и образовавшаяся при промывании эмульсия переносятся в эрленмейеровскую колбочку на 100 см<sup>3</sup> и кипятятся на выключенной (до этого нагретой) электрической плитке, пока не испарится имеющаяся там вода. После испарения воды добавляют 10 см<sup>3</sup> 2% раствора едкого натра в метиловом спирте и продолжают выпаривать до объема 8—10 см<sup>3</sup>. При этом выпадают посторонние примеси, которые затем отделяют центрифугированием. Центрифугат желтого цвета переносят в фарфоровую чашку, осадок промывают толуолом; промывной толуол сливают в ту же фарфоровую чашку и выпаривают досуха (в вытяжном шкафу).

В полученном в фарфоровой чашке препарате находится прегнандиол, который необходимо очистить. Для этого в фарфоровую чашечку с осадком прегнандиола прибавляют 5 см<sup>3</sup> ацетона и нагревают до растворения осадка; затем добавляют 20 см<sup>3</sup> децинормального раствора едкого натра и ставят на 30 минут на холод. Выпавшие кристаллы прегнандиола отделяют центрифугированием, затем промывают водой, после чего растворяют в горячем спирте (10—15 см<sup>3</sup> ректифицированного спирта). Спирт выпаривают на слабом огне в фарфоровой чашке, к осадку приливают 10 см<sup>3</sup> концентрированной серной кислоты. При наличии в моче прегнандиола весь раствор приобретает коричневый цвет; светлое или слабо желтое окрашивание говорит об отсутствии прегнандиола в моче.

ТЕСТЫ ДЛЯ

1) Степ

ках отделяе

шенных по

Перва

вижной грам

Делерейна

теля. Эта

органов.

Втор

сапрофиты

ная сопп

либо общи

Тре

полное не

родная ф

патологи

Че

палочка

обуслов

влагали

Ст

влагали

от кис

дается

степен

реакци

чистот

ников

1) сме

50 и

эозина

1



## ОТДЕЛ ПЯТЫЙ ВЫДЕЛЕНИЯ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ

### ГЛАВА ПЕРВАЯ ОТДЕЛЯЕМОЕ ВЛАГАЛИЩА

#### ТЕСТЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГОРМОНАЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ЯИЧНИКА

1) **Степень чистоты влагалища.** Степень чистоты изучается на мазках отделяемого влагалища, взятых ватным тампоном или петлей и окрашенных по Граму. Различают четыре степени чистоты.

Первая степень чистоты: чистая культура довольно толстой, неподвижной грамположительной палочки, так называемой влагалищной палочки Дедерлейна (рис. 162); наряду с ней, единичные клетки слущенного эпителия. Эта степень чистоты характерна для здорового состояния половых органов.

Вторая степень чистоты: наряду с влагалищной палочкой, другие сапрофиты, преимущественно нежная, слегка изогнутая грамотрицательная *сочта variabile*, редкие лейкоциты. Такая картина не связана с каким-либо общим или местным заболеванием.

Третья степень чистоты: многочисленные гнойные клетки и почти полное исчезновение влагалищной палочки, которую заменяет пестрая гноеродная флора, как аэробная, так и анаэробная. Эта картина свойственна патологическому состоянию полового аппарата.

Четвертая степень чистоты: чисто гнойный секрет; влагалищная палочка целиком вытеснена гноеродной флорой. Такая картина обычно обусловливается присоединением к основной болезни заболевания самой влагалищной стенки — кольпита.

Степень чистоты может служить тестом функционального состояния влагалища, особенно при различных аномалиях менструаций. Она зависит от кислотности влагалищного секрета: при pH от 4,0 до 5,0 обычно наблюдается первая степень чистоты; при pH от 5,0 до 6,7 — вторая и третья степень чистоты. В результате лечения отмечается выраженный сдвиг реакции в сторону усиления кислотности, отражающейся на степени чистоты и свидетельствующей о положительном сдвиге в функции яичников<sup>1</sup>.

2) **Цитологическое исследование влагалищного мазка. Реактивы:**  
1) смесь абсолютного спирта с эфиром (взятых поровну); 2) спирт 70°, 95° и абсолютный; 3) гематоксилин Эрлиха; 4) 1% водный раствор эозина; 5) толуол; 6) канадский бальзам.

<sup>1</sup> Мандельштам А. Э., Функциональная диагностика в гинекологии, 1947.



Все растворы помещают в плоские стеклянные баночки с притертыми стеклянными крышками (бюксы).

Приготовление гематоксилина Эрлиха. В широкогорлую склянку помещают: гематоксилина — 2 г, абсолютного спирта — 100 см<sup>3</sup>, глицерина — 100 см<sup>3</sup>, дистиллированной воды — 100 см<sup>3</sup>, ледяной уксусной кислоты — 10 см<sup>3</sup>.

Все вместе смешивают, после чего в склянку всыпают в избытке толченые калийные квасцы. Затем горло склянки обвязывают марлей и оставляют раствор на свету для созревания. Созревший раствор должен иметь ароматичный не кислый запах и красновато-фиолетовый цвет. Созре-

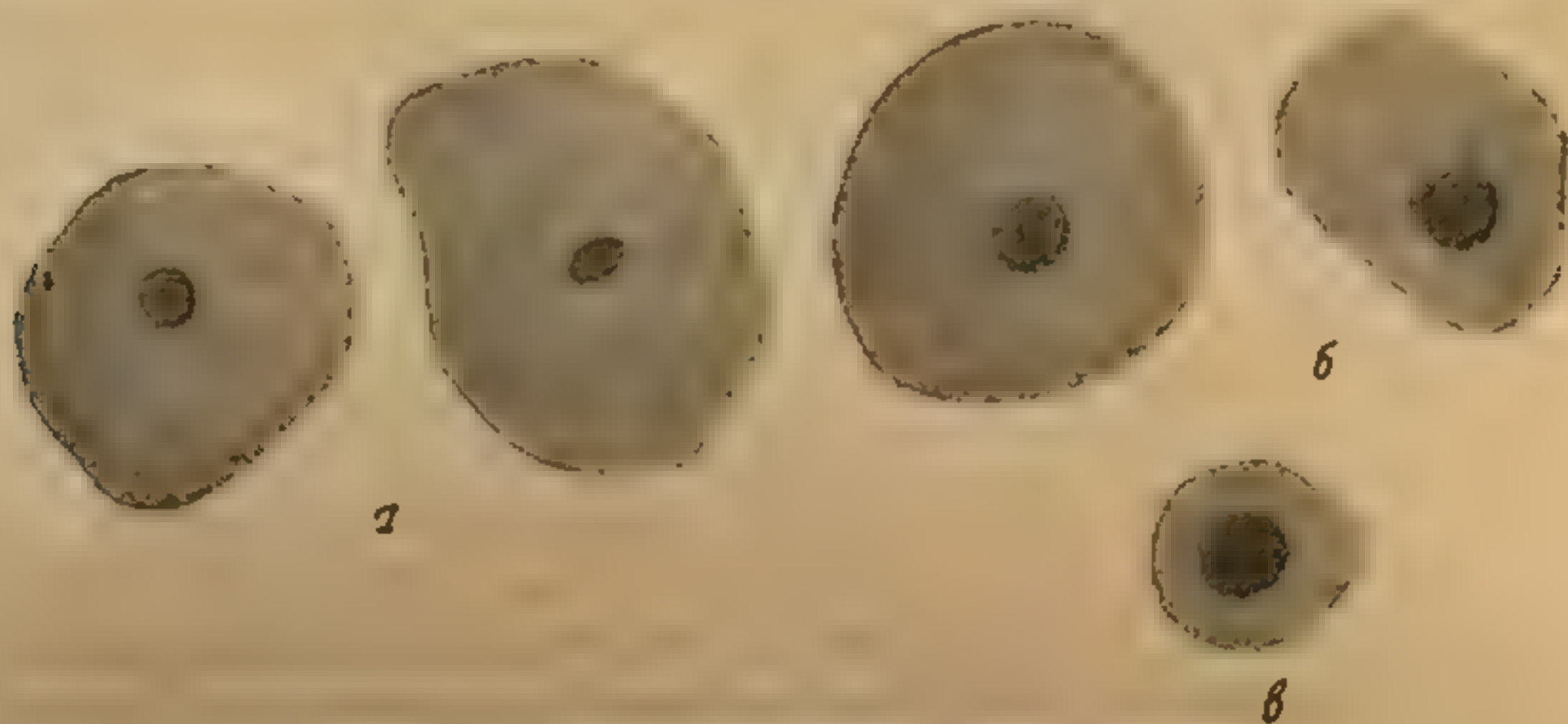


Рис. 163. Клетки влагалищного мазка.

а — ороговеелые клетки; б — промежуточные клетки; в — базальная или атрофическая клетка<sup>1</sup>.

ший раствор закрывают пробкой и держат в шкафу. Перед употреблением раствор фильтруют через бумажный фильтр и проверяют его годность (путем окраски препаратов). Профильтрованный раствор (как и нефильтрованный) довольно стоек; от времени до времени фильтрование повторяют.

а) Взятие материала и окраска мазков. 1. Влагалищное отделяемое насасывается из бокового свода (лучше при введенном влагалищном зеркале) узким стеклянным наконечником или пипеткой с резиновой грушей. 2. Материал тотчас распределяют тонким слоем на одной половине предметного стекла и сейчас же погружают в смесь спирта с эфиром на 10 минут для фиксации. 3. Фиксированные мазки переносят в гематоксилин Эрлиха на 30 минут, после чего их промывают водопроводной водой. 4. Погружают в стакан с холодной водопроводной водой на 15 минут, воду меняют 1—2 раза. 5. Докрашивают эозином (4) в течение 10 минут, вновь промывают водопроводной водой. 6. Проводят через 70°, 95° и абсолютный спирты, оставляя в каждом на 2—3 минуты. 7. Погружают в толуол на 5 минут. 8. Заключают в канадский бальзам.

Предложен также более дешевый и быстрый способ окраски, который, однако, дает не такую отчетливую картину. Он сводится к следующему. Добытый секрет размазывают с несколькими каплями физиологического раствора на предметных стеклах. Мазкам дают высохнуть на воздухе и окрашивают их в течение одной минуты разведенным раствором фуксина (фуксина кислого 3 г, спирта 95° 100 см<sup>3</sup>; 12 см<sup>3</sup> этого раствора приливают к 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды).

б) Типы клеток влагалищного мазка (рис. 163). В эпителиальном покрове, выстилающем влагалище, различают три слоя: 1) по-

<sup>1</sup> Преображенский А. П. и Петрова Е. Н., Акушерство и гинекология, № 5, 1947.



верхностный слой, 2) промежуточный слой, носящий еще название шиповидного, и 3) основной слой, или базальный. Соответственно этому мы встречаем во влагалищном мазке три типа эпителиальных клеток.

1. Ороговевающие поверхностные эпителиальные клетки — самые крупные, ясно очерченные, с маленьким темно окрашенным ядром и слабо окрашенной протоплазмой. Встречаются в преобладающем количестве в фолликулиновой фазе менструального цикла, т. е. с 9-го по 14-день цикла, при нормальной функции яичника.

2. Промежуточные клетки — довольно крупные эпителиальные клетки, часто неправильной формы, с более крупным круглым ядром. Встречаются во всех фазах менструально-овариального цикла.

3. Атрофические, или базальные, клетки из более глубоких слоев эпителия. Они значительно меньших размеров, с довольно крупным ядром, иногда почти заполняющим клетку. Эти клетки преобладают в мазках во время менопаузы. Встречаются в различном количестве при гипофункции яичников. Единичные клетки могут встречаться во время менструации и в небольшом количестве непосредственно после родов. Все клеточные элементы мазка, за исключением лейкоцитов, являются десквамированными, мертвыми и частью деформированными.

в) Типы реакций. Различают четыре типа реакций, могущие служить критерием гормональной функции яичника.

Первая реакция: резкая недостаточность фолликулярных гормонов (эстрогенов); полное отсутствие ороговевающих клеток и клеток промежуточного типа; мазок состоит из клеток базального типа и большого числа лейкоцитов.

Вторая реакция: умеренно выраженная недостаточность эстрогенов; в мазке значительное количество базальных клеток и довольно много промежуточных клеток; наряду с ними, содержатся и лейкоциты в довольно значительном количестве.

Третья реакция: легкая степень недостаточности эстрогенов; преобладают промежуточные клетки различной величины и формы, часто нечетко очерченные; клетки могут встречаться скоплениями; встречаются также немногочисленные базальные (атрофические) клетки.

Четвертая реакция: достаточная секреция эстрогенов; мазок состоит из больших ороговевающих клеток плоского эпителия; базальных клеток и лейкоцитов нет.

Содержание фолликулярных гормонов (эстрогенов) в организме здоровой женщины в разные фазы овариально-менструального цикла представляет закономерные изменения. Параллельно с этим наблюдаются циклические изменения влагалищного эпителия.

## ЖИВОТНЫЕ ПАЗАЗИТЫ ВЛАГАЛИЩА

1) *Trichomonas vaginalis*, морфологически сходный с *Trichomonas intestinalis* (см. «Каловые массы»), но несколько крупнее его.

Для обнаружения трихомонад во влагалищном отделяемом каплю отделяемого, взятую платиновой петлей, кладут на предметное стекло и, покрыв покровным, исследуют тотчас же под микроскопом с сильной сухой системой. В живом состоянии паразиты легко распознаются, благодаря своему энергичному движению; после потери подвижности найти их значительно труднее.

Сухие мазки лучше всего красить метилгрюнпиронином 25—35 минут (состав краски см. ниже — «Окраска гонококков»). Протоплазма трихомо-



над при этой окраске темнорозовая, ядро темнофиолетовое; протоплазма лейкоцитов бледнорозовая, ядра голубовато-зеленые.

Трихомонады встречаются при вагините у женщин всех возрастов, особенно часто при беременности. Иногда они содержатся в выделениях в громадном количестве. Трихомонады могут паразитировать и в уретре как у мужчин, так и у женщин; при этом наблюдаются слизисто-гнойные, мутноватые или водянистые выделения. Уретриты, вызываемые этими простейшими, часто остаются нераспознанными.

Мнения о патогенности этого простейшего расходятся. Одни считают его возбудителем трудно излечимых катарров половых путей и мочевого пузыря, другие — безвредным паразитом, который находит благоприятные условия жизни в патологически измененных органах и способен поддерживать воспаление; третьи совершенно отрицают его патогенное значение.

Заражение трихомонадами происходит при половых сношениях, при пользовании общей постелью, полотенцами, уборной.

2) *Enterobius vermicularis* (см. «Каловые массы»). Паразитирующая обычно в кишечнике острица способна заползать в половую щель детей и женщин и вызывать там сильное раздражение. Энтеробиоз является у детей одной из частых причин вульвовагинита.

## ПАТОГЕННЫЕ БАКТЕРИИ

1) Палочка дифтерии. Она может быть обнаружена путем бактериоскопического и бактериологического исследования (см. «Методы микробиологического и серологического исследования»).

В случае положительного результата необходимо проверить вирулентность выделенной культуры. Дифтерия половых органов — относительно редкое заболевание; она наблюдается либо одновременно с дифтерией зева, либо независимо от нее.

От истинно дифтерийных изъязвлений следует отличать псевдодифтерийные язвы. Последние встречаются крайне редко. Возбудители их — ложнодифтерийные палочки.

2) *B. crassus*. *B. crassus* рядом авторов считается возбудителем острой язвы вульвы Чапин-Липшютца.

Острая язва — заболевание не венерическое, но может имитировать таковое. Язвы обычно носят множественный характер. Число их может сильно варьировать; иногда они покрывают всю кожу наружных половых органов, слизистую вульвы, малых губ и т. д. Язвы круглой или овальной формы. Отделяемое гнойного характера. При бактериоскопическом исследовании отделяемого обычно находят большое количество неподвижных грамположительных палочек длиной от 7—8 до 40  $\mu$  со срезанными концами. Палочки могут складываться в короткие цепочки; иногда они располагаются внутриклеточно. Тождество этой палочки с вагинальной палочкой Дедерлейна можно считать доказанным. Болезнь была описана Липшютцем в 1905 г. и независимо от него Чапиным в 1908 г.

## ПАТОГЕННЫЕ ГРИБКИ

Единственный грибок, вызывающий поражение вульвы и влагалища, это грибок молочницы — *Monilia albicans* s. *Oidium albicans*. Он образует белые довольно плотные комочки, сидящие на слизистой оболочке малых губ, наружной половой щели и влагалища. При расщеплении этих комочков легко обнаружить элементы грибка. Морфологию грибка — см. «Возбудители кожных болезней».



## ГЛАВА ВТОРАЯ

### СЕМЕННАЯ ЖИДКОСТЬ

Исследование человеческого семени обычно имеет целью решить вопрос, способен ли данный человек производить потомство.

#### СОБИРАНИЕ МАТЕРИАЛА

Семенную жидкость обычно собирают в кондом, который предварительно должен быть тщательно вымыт водопроводной водой и высушен. После эякуляции семя переносится из кондома в стеклянный пузырек или пробирку, которые закрывают корковой пробкой; во время переноса материала нет надобности поддерживать температуру, так как сперматозоиды при низкой температуре дольше сохраняют подвижность. Исследование желательно производить тотчас после доставки материала в лабораторию.

#### ОБЩИЕ СВОЙСТВА

Нормальное семя представляет густую, вязкую беловатую жидкость, которая с трудом расплывается под покровным стеклом, благодаря присутствию в ней особого студневидного вещества. При стоянии примерно в течение 30 минут наблюдается самопроизвольное разжижение. Отсутствие разжижения может затруднять движение сперматозоидов и тем самым тормозить оплодотворение. Это разжижение обусловлено специфическим ферментом — гиалуронидазой.

В состав семени входит отделяемое яичка и семенных пузырьков; сюда же примешивается выделение из простаты, желез Купера и Литтре, а также слизистой оболочки мочеиспускательного канала.

Количество эякулята составляет в среднем около 3—4 см<sup>3</sup>; однако встречаются колебания от 1—2 капель до 10 см<sup>3</sup>. Уменьшение количества до 1,5 см<sup>3</sup> и меньше само по себе не является причиной бесплодия.

pH нормального семени 7,7—8,5. Определение pH имеет значение, поскольку при сдвиге pH в кислую сторону до 6,0 и ниже обычно наблюдается некроспермия.

#### МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Приготавливают свежий препарат обычным способом и исследуют его с малым и большим увеличением (объектив 3 и 5 или 7).

При микроскопическом исследовании находят следующие форменные элементы.

1) **Сперматозоиды** (рис. 164) — самая существенная часть семени. Количество их в нормальном семени очень велико — до 100—150 млн. в 1 см<sup>3</sup>. Форма сперматозоидов настолько характерна, что распознать их легко. Они обладают большой подвижностью: в здоровом семени подвижность их при комнатной температуре сохраняется до 24 часов.

В патологических случаях число сперматозоидов может быть резко уменьшено или они могут отсутствовать. Уменьшение их числа носит название олигоспермии, полное отсутствие — азооспермии. Более точная оценка их числа может быть произведена при помощи подсчета.

**Техника подсчета.** Семя разводят следующим раствором: двууглекислый натрий — 5 г, формалин (продажный) — 1 см<sup>3</sup>, дистиллированная вода — 100 см<sup>3</sup>.



Тщательно смешав материал встряхиванием или стеклянной палочкой, насасывают его в смеситель для лейкоцитов до метки 0,5, а затем — разводящего раствора до метки 11 (разведение в 20 раз). При малом числе разводят не в 20, а в 10 раз. Вместо смесителя можно для разведения пользоваться мерительными пипетками. Подсчет производят в любой счетной камере — Предтеченского, Горяева и т. д. Результат выражают числом сперматозоидов в 1 см<sup>3</sup> (а не в 1 мм<sup>3</sup>, как принято для лейкоцитов). Поэтому число, полученное при сосчитывании 4 больших квадратов, надо умножить не на 50, а на 50 000.

Кроме изменения числа сперматозоидов в патологических случаях, изменяется их подвижность. Они могут выделяться совершенно неподвижными, мертвыми (некроспермия) или же слабо подвижными.

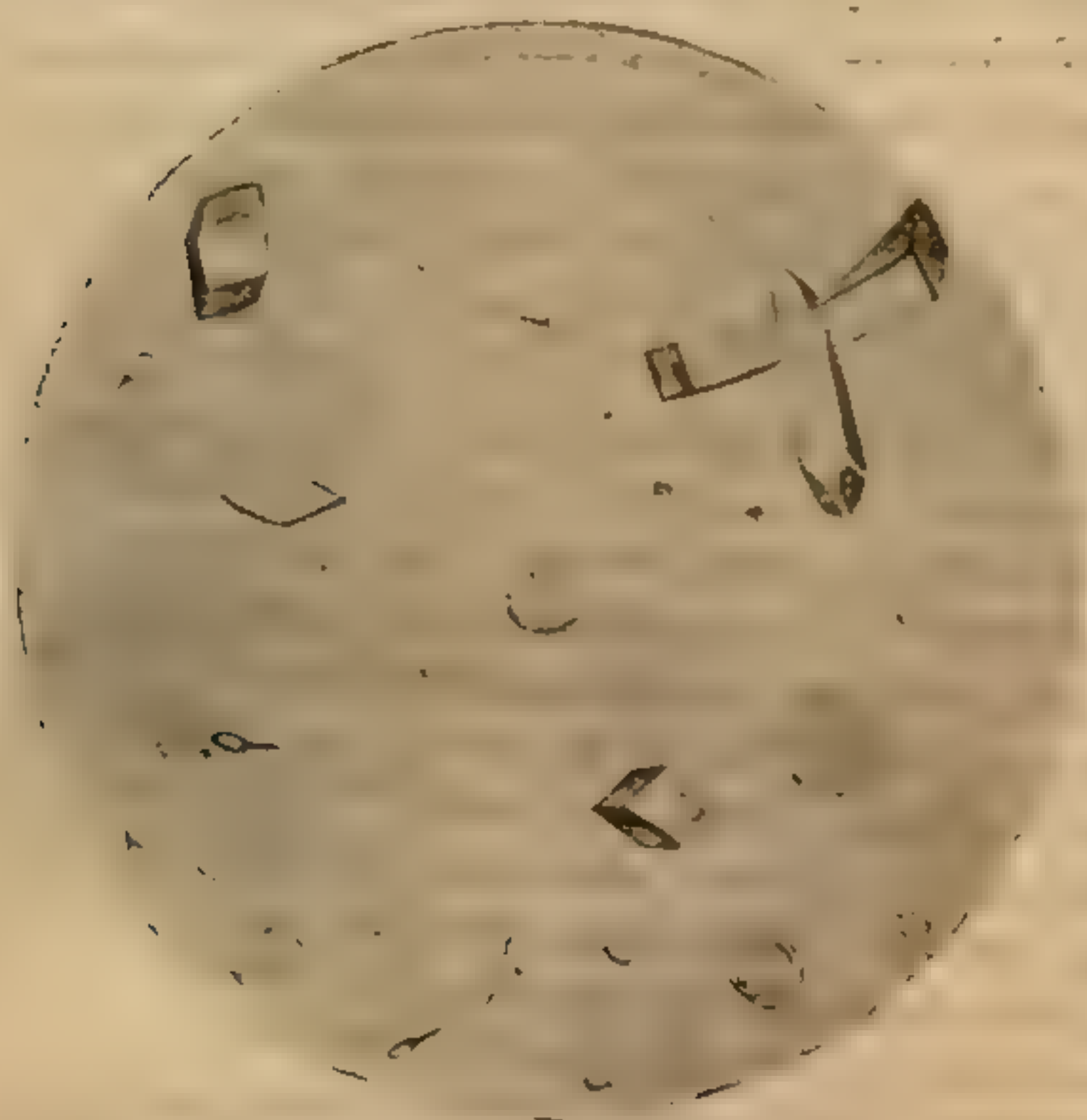


Рис. 164. Сперматозоиды, зерна и шары лецитина и семенные кристаллы.

При очень вялой подвижности материал исследуют вторично, нагрев его предварительно до 37°. Наряду с подвижными экземплярами, могут встречаться и неподвижные, подсчет которых производится при помощи окуляра Эрлиха или кружка бумаги с вырезанным квадратиком, вложенным в окуляр. Соотношение подвижных и неподвижных экземпляров имеет определенное значение: 10—15% неподвижных экземпляров не являются причиной бесплодия.

Наконец, играет роль и изменение их морфологии, лучше всего выявляемое на окрашенных препаратах.

Способ окраски. Мазок готовят обычным способом, высушивают на воздухе и фиксируют пламенем. Наливают на него на несколько секунд 1% раствор хлорамина для удаления слизи. Промывают водой и 95° алкоголем. Окрашивают в течение 2—5 минут смесью фуксина с эозином следующего состава: карболовый фуксин Циля — 2 части, насыщенный спиртовой раствор эозина — 1 часть, алкоголь 95° — 1 часть. Промывают водой, докрашивают синькой Леффлера и исследуют с иммерсионной системой.

В патологических случаях наблюдаются следующие изменения: увеличение или уменьшение головки, ее раздвоение, наличие ацидофильных вакуолей, раздвоение средней части и хвоста, его укорочение или же полное отсутствие. Наличие более 20% патологических форм может обусловить бесплодие.

## 2) Другие форменные элементы.

1. Одноядерные мелкозернистые клетки яичка, а также разнообразные клетки цилиндрического и плоского эпителия, происходящие из тех каналов, по которым прошла семенная жидкость.
2. Одиночные эритроциты и лейкоциты.
3. Яичковые цилиндры (см. «Осадки мочи»).
4. Гиалиновые шары.
5. Зерна лецитина — мелкие блестящие, сильно преломляющие свет образования.



6. Амилоидные конкременты, выделяющиеся из предстательной железы, чаще после повторных совокуплений; узнаются легко по овальной форме и характерному слоистому строению, причем центральная часть их нередко бывает мелкозерниста и содержит одно или несколько овальных ядер (рис. 165).

7. Семенные кристаллы Беттхера, по форме напоминают кристаллы Шарко-Лейдена, которые встречаются в мокроте (см. «Мокрота»), крови и кале, но в отличие от последних красятся раствором люголя в темно-синий цвет. Появление семенных кристаллов в семени указывает на наличие простаторреи.

8. Тельца Труссо-Лалемана — образования разнообразной формы, желтоватого цвета, несколько напоминающие восковидные цилиндры. Часто на них лежат сперматозоиды (рис. 166).

9. Примесь крови и гноя наблюдается при воспалительных процессах. Последние чаще локализуются в предстательной железе и мочеиспускательном канале, чем в семенных путях.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИСУТСТВИЯ СЕМЕНИ В СУДЕБНОМЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ

При исследовании пятен на белье, одежде и т. д. маленький кусочек подозрительной ткани кладут на чистое предметное стекло, смачивают несколькими каплями физиологического раствора и соскабливают смоченную поверхность скальпелем. Из полученного таким образом материала готовят окрашенные мазки, в которых отыскивают сперматозоиды и отмечают патологические формы, если таковые имеются.

При отсутствии сперматозоидов производят микрохимические реакции.

1) **Реакция Флоранса.** Реактив: иодистый калий — 1,65 г, иод — 2,54 г, дистиллированная вода — 30 см<sup>3</sup>.

Производство реакции. Кусочек ткани с подозрительным пятном кладут на предметное стекло и смачивают каплей воды; через несколько минут кусочек удаляют, а рядом с оставшейся каплей воды помещают каплю реактива. Обе капли покрывают покровным стеклом и рассматривают под микроскопом. Если пятно семенного происхождения, то на границе смешивающихся жидкостей видно большое количество кристаллов темнокоричневого цвета. Кристаллы имеют форму ромбических табличек или тонких игл различной величины; некоторые из них едва помещаются в поле зрения микроскопа (рис. 167).

Отрицательный результат реакции с достоверностью доказывает, что исследуемый материал не семенного происхождения. Положительный результат не вполне доказателен, так как реакция Флоранса не специфична: она получается и с соками других органов.

2) **Реакция Барберио-Чевидалли.** Реактив: насыщенный раствор пикриновой кислоты в глицерине; по окончании насыщения на дне сосуда должен оставаться избыток нерастворенной пикриновой кислоты; к раствору приливают столько алкоголя, чтобы избыток пикриновой кислоты растворился.

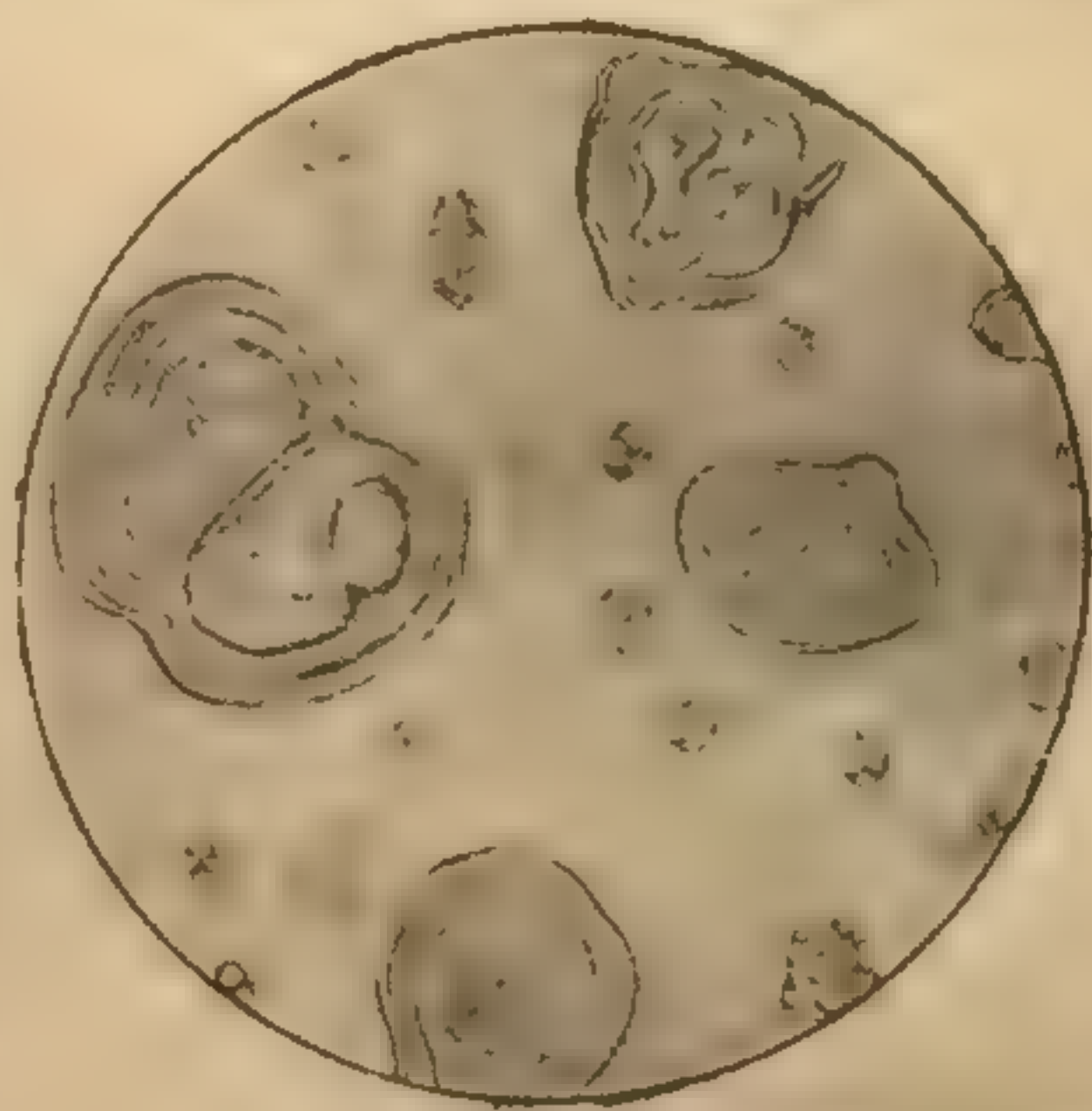


Рис. 165. Амилоидные конкременты в щелочной моче.



К капле семенной жидкости или жидкости семенного происхождения на предметном стекле прибавляют одну каплю реактива. Препарат покрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом. При положительном результате видны мелкие ромбические кристаллы желтоватого цвета. Реакция более специфична, чем реакция Флоранса, так как другие соки организма и семенная жидкость животных, окружающих человека, ее не дают.

### ГЛАВА ТРЕТЬЯ

## ВОЗБУДИТЕЛИ ВЕНЕРИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

### БЛЕДНАЯ СПИРОХЕТА — SPIROCHAETA PALLIDA

(s. *Treponema pallidum*)

Бледная спирохета открыта Шаудином (Schaudinn) и Гофманом (Hoffmann) в марте 1905 г. Это открытие, явившееся завершением многолетних и бесплодных поисков возбудителя сифилиса, было в дальнейшем подтверждено другими исследователями.

Свое название бледная спирохета получила в связи с ее слабой светопреломляемостью и свойством с трудом окрашиваться обычными анилиновыми красками.

1) **Морфология и биология бледной спирохеты.** Бледная спирохета по своей форме представляет спираль с равномерными завитками, суживающуюся по концам, что делает ее похожей на штопор. Длина спирохеты зависит от количества завитков. Длина каждого завитка равна примерно 1  $\mu$ . Количество завитков колеблется в весьма широких пределах — от 5—6 до 20—24; чаще всего она имеет 8—14 завитков, углы которых закруглены. Глубина завитков равна 0,8—1,5  $\mu$ . Ширина бледной спирохеты 0,4—0,5  $\mu$  (рис. 168). Многими



Рис. 168. Бледная спирохета.

исследователями описаны на концах и по бокам спирохеты спиралевидные усики, роль которых не совсем ясна: некоторыми авторами они рассматриваются как органы движения, другие предполагают в теле спирохеты наличие ундулирующей мембраны.

Бледная спирохета обладает весьма активными движениями, которые бывают четырех видов: 1) сгибательное движение, при котором спирохета раскачивается, наподобие маятника часов; 2) ротаторное движение — спиротеха чередует то быстрое, то медленное движение вперед с некоторым отступлением назад; 3) поступательное движение, при котором спирохета движется вперед с некоторым отступлением назад; 4) контрактильное движение — волнообразное раздвигающееся на ветру флаг. Все эти виды движения могут комбинироваться в различных сочетаниях или, реже, наблюдаться изолированно.



Размножение бледной спирохеты происходит, по мнению большинства авторов, простым поперечным или (что менее вероятно) продольным делением. Совершенно не доказан предполагавшийся некоторыми авторами (Боголепов) более сложный цикл развития бледной спирохеты. Так же не убедительны попытки ряда авторов доказать наличие у спирохеты фильтрующегося вируса.

Бледная спирохета является анаэробом. При высыхании на воздухе она сразу теряет свою подвижность. Вне животного организма, но во влажной среде ее подвижность может сохраняться до 4 дней. Низкие температуры переносятся спирохетой лучше, чем высокие. Так, при температуре  $60^{\circ}$  бледная спирохета живет только 20 минут, при  $40^{\circ}$  она теряет свою патогенность через час, а при температуре от  $-16^{\circ}$  до  $-78^{\circ}$  сохраняет свою патогенность от 3 до 12 месяцев. Бледная спирохета гибнет моментально от воздействия на нее *in vitro* раствора сулемы 1:1 000 — 1:4 000, 0,5% раствора карболовой кислоты,  $60^{\circ}$  спирта, крепких кислот и щелочей, 0,5% раствора ляписа; в растворе марганцовокислого калия 1:1 000 бледные спирохеты сохраняют свою подвижность (Аствацатуров и Юшков)<sup>1</sup>.

2) **Взятие материала.** Материалом для исследования на бледную спирохету служит тканевая жидкость (серум) из сифилитических элементов или сок лимфатической железы. Для добывания серума существуют несколько методов, из которых наиболее эффективными являются следующие.

а) **Метод раздражения.** Исследуемый объект (твердый шанкр, мокнущая папула, широкая кондилома и т. п.) тщательно очищают ваткой, смоченной стерильным физиологическим раствором, и затем осушивают марлевым или ватным тампоном. Платиновой петлей (в случае отсутствия платиновой проволоки ее можно с успехом заменить вольфрамовой из негодной электрической лампочки) производят осторожные (чтобы не вызвать кровотечения) поглаживающие движения по поверхности эрозии (язвы, папулы). Через несколько секунд, через минуту, редко больше, поверхность эрозии становится блестящей в результате просачивания тканевой жидкости. Последняя представляется прозрачной или слегка опалесцирующей, бесцветной или слегка желтоватого цвета. Иногда полезно после раздражения немного подождать, после чего выделение серума с поверхности эрозии становится обильнее. В случае появления значительного кровотечения с поверхности эрозии следует остановить его (прижать ватным тампоном), после чего продолжать осторожные поглаживания платиновой петлей. Небольшая примесь крови к серуму допустима.

б) **Метод сдавливания.** Эрозию, язву или папулу сдавливают с боков пальцами или пинцетом, в результате чего на ее поверхности появляется серум. Этот метод чаще комбинируется с методом раздражения.

в) **Метод скарификации.** К этому методу прибегают при исследовании сухих элементов (розеол, лентикулярные папулы, заэпителизированная эрозия). Поверхность исследуемого элемента скарифицируют брусом скальпеля, пером Дженнера или платиновой лопаточкой. При этом неизбежно появляется капиллярное кровотечение, которое останавливают прижатием ватным тампоном, после чего производят очень осторожное поглаживание платиновой петлей скарифицированной поверхности до появления серума. Этот метод по эффективности значительно уступает предыдущим.

<sup>1</sup> Аствацатуров К. Р., Микроскопическая диагностика венерических и некоторых кожных заболеваний, 1948.



Нередко исследование становится безуспешным, если исследуемый элемент предварительно подвергался какой-либо местной терапии или к нему присоединилась вторичная инфекция. В этих случаях рекомендуется назначить местно примочки из физиологического раствора и через 1—2 дня повторить исследование.

г) Пункция лимфатической железы. К пункции регионарной лимфатической железы приходится прибегать в тех случаях, когда при подозрительной клинической картине описанные методы исследования не дали положительного результата или когда шанкр скрыт от глаза исследователя, или, наконец, когда шанкр полностью заэпителизировался. Пунктируется обычно регионарная (близлежащая к первичному склерозу) лимфатическая железа, плотная, подвижная, без признаков острого воспа-



Рис. 169. Форма бумажки по Архангельскому.

ления. Для пункции выбирается 2—5-граммовый шприц с хорошо притертым поршнем и острая короткая игла, также хорошо пригнанная к шприцу. Место прокола смазывают иодом. Исследуемую железу фиксируют двумя пальцами левой руки и правой рукой вкалывают в нее иглу. Прокол производят у одного из полюсов железы и затем проталкивают иглу по направлению длинной оси лимфатической железы через всю ее толщу до противоположного полюса. Затем иглу медленно выводят из железы, одновременно оттягивая поршень из шприца. Этим достигается получение материала из всех слоев железы, в том числе и из коркового слоя. Можно производить также пункцию с обогащением, для чего в шприц предварительно набирают 0,1—0,2 см<sup>3</sup> стерильного физиологического раствора, который после производства прокола выпускают в железу, и произведя ее легкое массирование, снова набирают в шприц; после производства 3—4 таких аспирационных движений игла со шприцем выводится из железы. Правильность производства пункции подтверждается наличием в пунктате лимфоцитов.

3) Исследование в темном поле зрения. Исследование бледной спирохеты в живом состоянии является наиболее эффективным и простым по технике выполнения. Метод темного поля основан на известном физическом феномене Тиндаля (светящиеся пылинки в косом луче солнца, проникающем в темную комнату через узкую щель). Необходимые условия для осуществления этого феномена искусственно создаются путем замены обычного конденсора Аббе особым конденсором (параболоид-конденсор или кардиоид-конденсор), в котором центральная часть затемнена. Проникновение светлых лучей происходит через узкую боковую щель. Вследствие получающегося при этом бокового освещения достигается отраженное свечение всех твердых частиц, в том числе и бледной спирохеты, на темном фоне — картина, которую образно сравнивают со звездным небом.

В 1934 г. Архангельский предложил пользоваться вместо фабричного конденсора для темного поля зрения обычным конденсором Аббе, между двумя линзами которого вставляется кружок черной бумаги (лучше из конверта от фотобумаги; рис. 169). Для советских марок, а также для



фирмы Цейсса размер кружка должен соответствовать 15-копеечной монете. При вырезывании оставляется четыре выступа, которые упираются в металлическую оправу линзы и обеспечивают центральное положение кружка (рис. 170—171). В качестве источника света служит осветитель, состоящий из металлического футляра, куда вставлена электрическая лампочка в 150 W. Можно пользоваться и непосредственно солнечным лучом, направленным на зеркало микроскопа.

Препарат для темного поля зрения готовят следующим образом: на предметное стекло помещают каплю физиологического раствора величиной с конопляное зерно; рядом наносят такое же количество полученного из исследуемого элемента серума, после чего обе капли смешивают и накрывают покровным стеклом (следить, чтобы не было воздушного купола под покровным стеклом).

Сок лимфатической железы физиологическим раствором не разводится. На верхнюю линзу конденсора помещают каплю водопроводной воды или кедрового масла, после чего приготовленный препарат помещают на столик микроскопа. Таким образом, между конденсором и препаратом создается однородная среда (вода, масло), что мешает отклонению световых лучей.

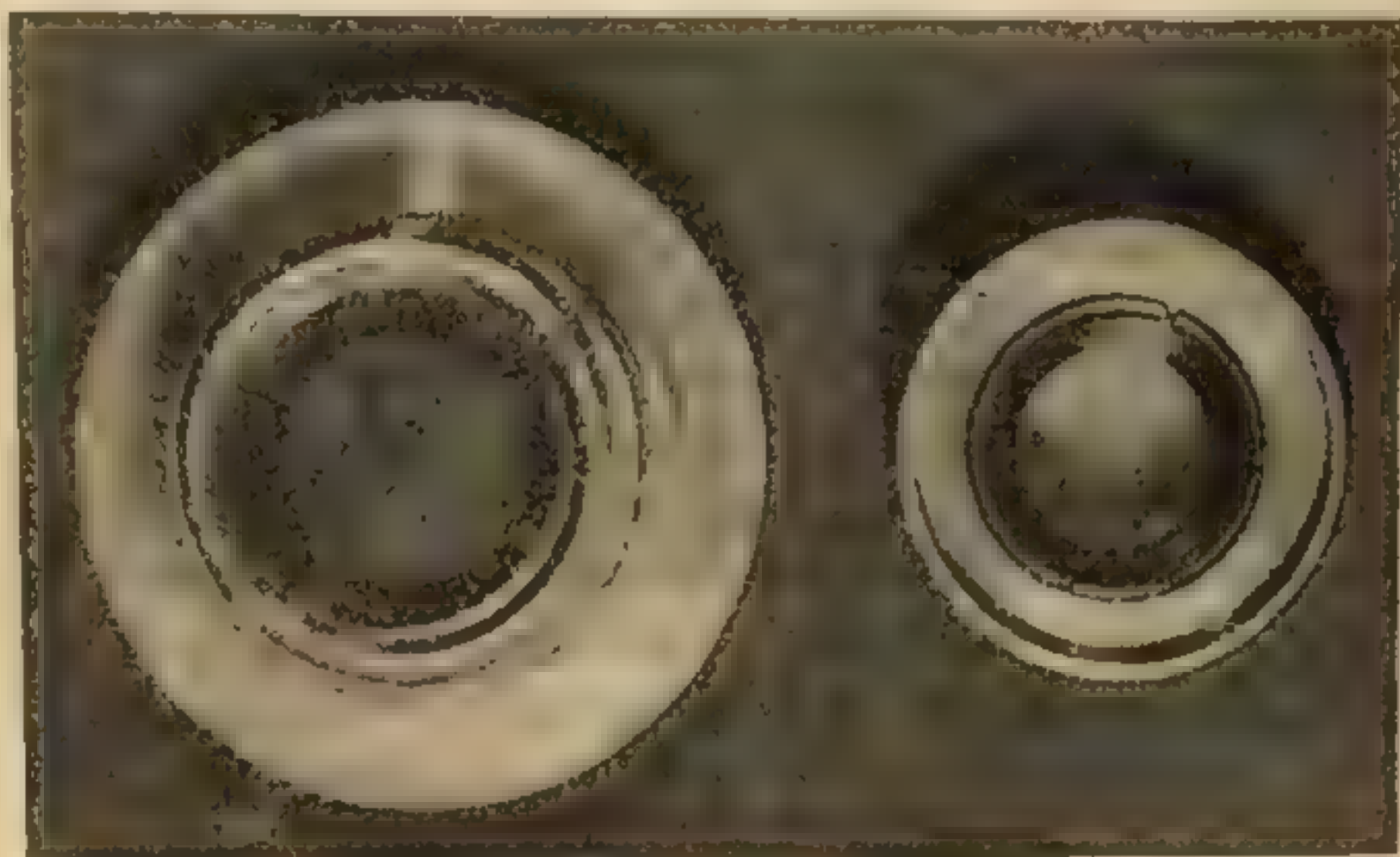


Рис. 170. Конденсор с бумажкой по Архангельскому.

Рис. 171. Осветитель по Архангельскому.

Получение изображения темного поля достигается правильным направлением светового пучка из осветителя на зеркало микроскопа и соответствующим вращением кремольеры и микрометрического винта. При микроскопировании сухой системой следует пользоваться объективами сильного увеличения. При пользовании иммерсионным объективом в последний с целью сузить диаметр его просвета вставляется особая муфточка (встречаются объективы с уже смонтированными ирисными диафрагмами), а на препарат (на покровное стекло) предварительно наносится капля иммерсионного масла.

При исследовании в темном поле бледная спирохета выглядит в виде очень нежной подвижной слабо светящейся серебристым блеском спирали или в виде пунктира, благодаря более яркому освещению выпуклой части завитков. Нейтрофилы представляются в виде округлых ярко светящихся зернистых образований. Лимфоциты — сероватотемные тускло светящиеся клетки округлой формы. Эпителиальные клетки значительно больше лейкоцитов, имеют округлые и неправильные очертания и ярко светятся. Эритроциты имеют вид темных элементов круглой формы, окаймленных светящейся полоской. Помимо указанных крупных клеток, все поле зрения усеяно массой мельчайших светящихся точек, находящихся в беспорядочном движении. Это — броуновское молекулярное движение твердых частиц, по наличию которого и судят о правильной установке препарата.

4) **Окраска бледной спирохеты.** С момента введения в практику лабораторной работы метода исследования в темном поле окраски бледной спирохеты утратили былую популярность. Исследование в тем-



ном поле, безусловно, проще, быстрее, удобнее и надежнее всех известных методов окраски. Однако в ряде случаев приходится ими пользоваться (иногда работа в условиях экспедиции, необходимость изучения морфологической изменчивости бледной спирохеты).

Методы окраски бледной спирохеты разбиваются на две основные группы: 1) методы позитивной окраски, где окрашивается сама спирохета, и 2) методы негативной окраски, когда окрашивается фон препарата, а спирохета остается бесцветной. Из методов позитивной окраски наиболее употребителен метод окраски по Романовскому-Гимза. Он состоит в следующем: на предметном стекле делают мазок из чистого серума, высушивают на воздухе и фиксируют в метиловом спирте (4 минуты) или в парах формалина (3—4 минуты); затем препарат заливают раствором краски Романовского-Гимза из расчета  $1\frac{1}{2}$  — 2 капли на  $1\text{ см}^3$  дистиллированной воды (15—20 капель краски на  $10\text{ см}^3$  воды). Окраска длится 12—15 часов, после чего краску сливают, препарат ополаскивают водой (струю воды следует направлять на ребро предметного стекла), высушивают на воздухе и микроскопируют иммерсионной системой. Бледная спирохета окрашивается в розовый с фиолетовым оттенком цвет; другие спирохеты окрашиваются в синий цвет. Хорошие результаты получаются при окраске ускоренной модификацией Шерешевского. При этом 15—20 капель краски Романовского-Гимза разводят в  $10\text{ см}^3$  0,5—1% глицириновой воды, разливают в 4—5 пробирок, каждую из которых последовательно нагревают на пламени спиртовой горелки; горячий раствор краски наливают на препарат на 2 минуты, после чего краску сливают и препарат заливают свежей порцией горячего раствора из следующей пробирки. Таким образом, вся окраска занимает всего 8—10 минут.

Из негативных окрасок может быть рекомендована следующая: на фиксированный мазковый препарат наливают на 3 минуты 2% раствор колларгола, после чего препарат ставят в наклонное положение (водой не смывают), отчего излишек краски стекает и препарат быстро высыхает. При микроскопии иммерсионной системой на золотистооранжевом фоне отчетливо контурируется бесцветная спирохета. Этот метод окраски бледной спирохеты выгодно отличается от прочих методов окраски своей простотой, доступностью и дешевизной, наряду с хорошей эффективностью. По этому методу можно красить и в несколько иной его модификации: на краю предметного стекла каплю серума смешивают с равным количеством 2% раствора колларгола и из этой смеси другим стеклом (лучше покровным) делают тонкий мазок. Препарат быстро высыхает на воздухе. Так же происходит и окраска по Бури, но только вместо колларгола серум смешивают с равным количеством жидкой китайской туши, предварительно разведенной половинкой дистиллированной водой. Мазок также быстро высыхает на воздухе и микроскопируется иммерсионной системой — на темносером фоне бледная спирохета выглядит бесцветной. Этот метод значительно уступает по получаемым результатам предыдущему.

**5) Дифференциальный диагноз бледной спирохеты.** Диагноз бледной спирохеты при известном навыке не представляет особых затруднений, благодаря ее изящному рисунку, равномерности завитков, стройным и характерным движениям, серебристому мерцанию.

На половых органах встречается обычно сапрофитирующая группа спирохет, объединенная под названием *Spirochaeta refringens*. Они отличаются от бледной спирохеты своим грубым строением и толщиной, неравномерностью завитков, беспорядочностью движений (отсутствием, как правило, сгибательных движений) и золотистым оттенком.



Рис. 172. Бледная спирохета.



Рис. 173. Бледная спирохета.



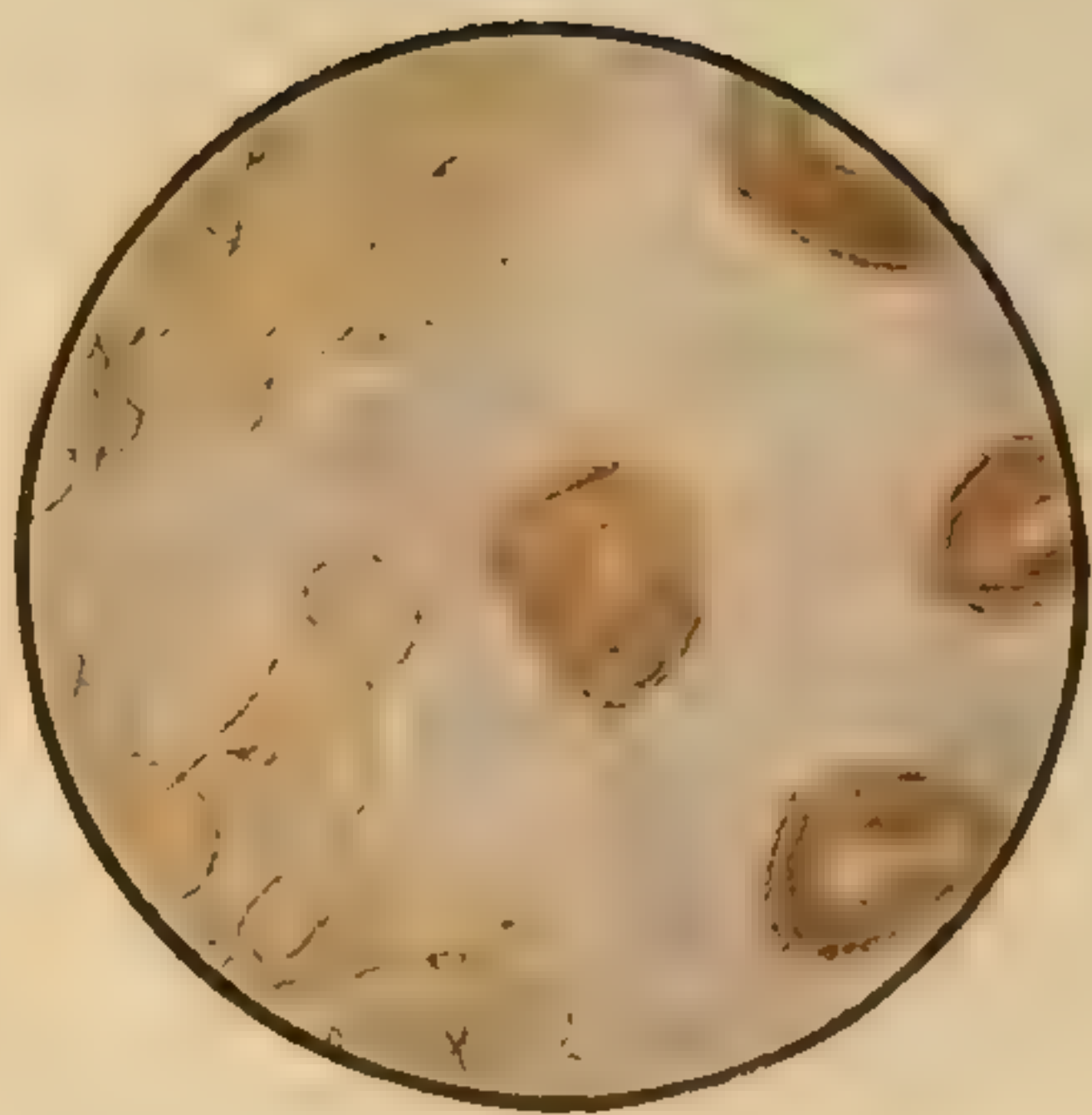


Рис. 166. Амилоидные конкременты и тельца Труссо-Лалемана (справа) и сперматозоиды (слева).



Рис. 167. Положительная реакция Флоранса.

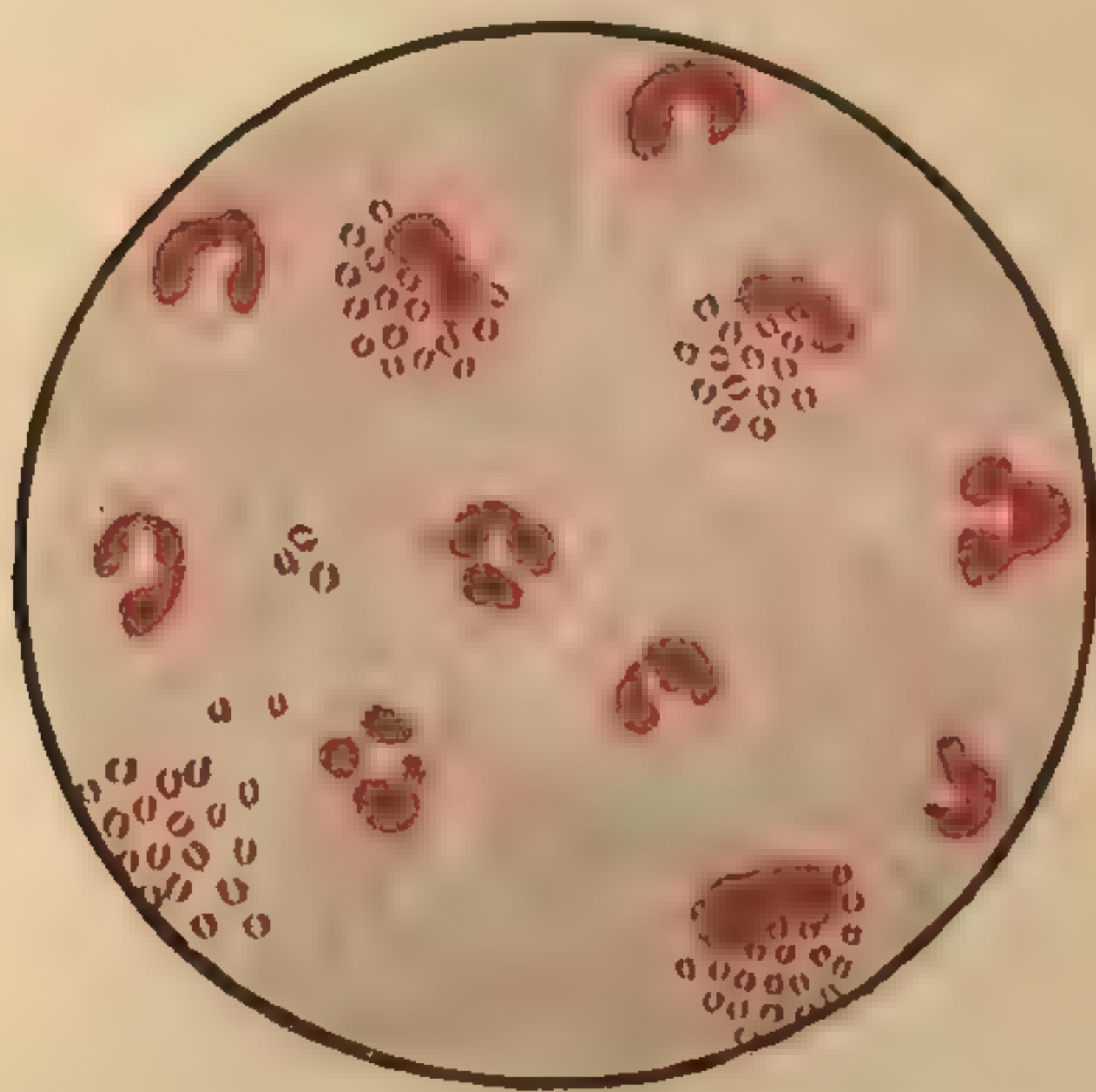


Рис. 172. Гонококк Нейссера. Окраска по Граму.

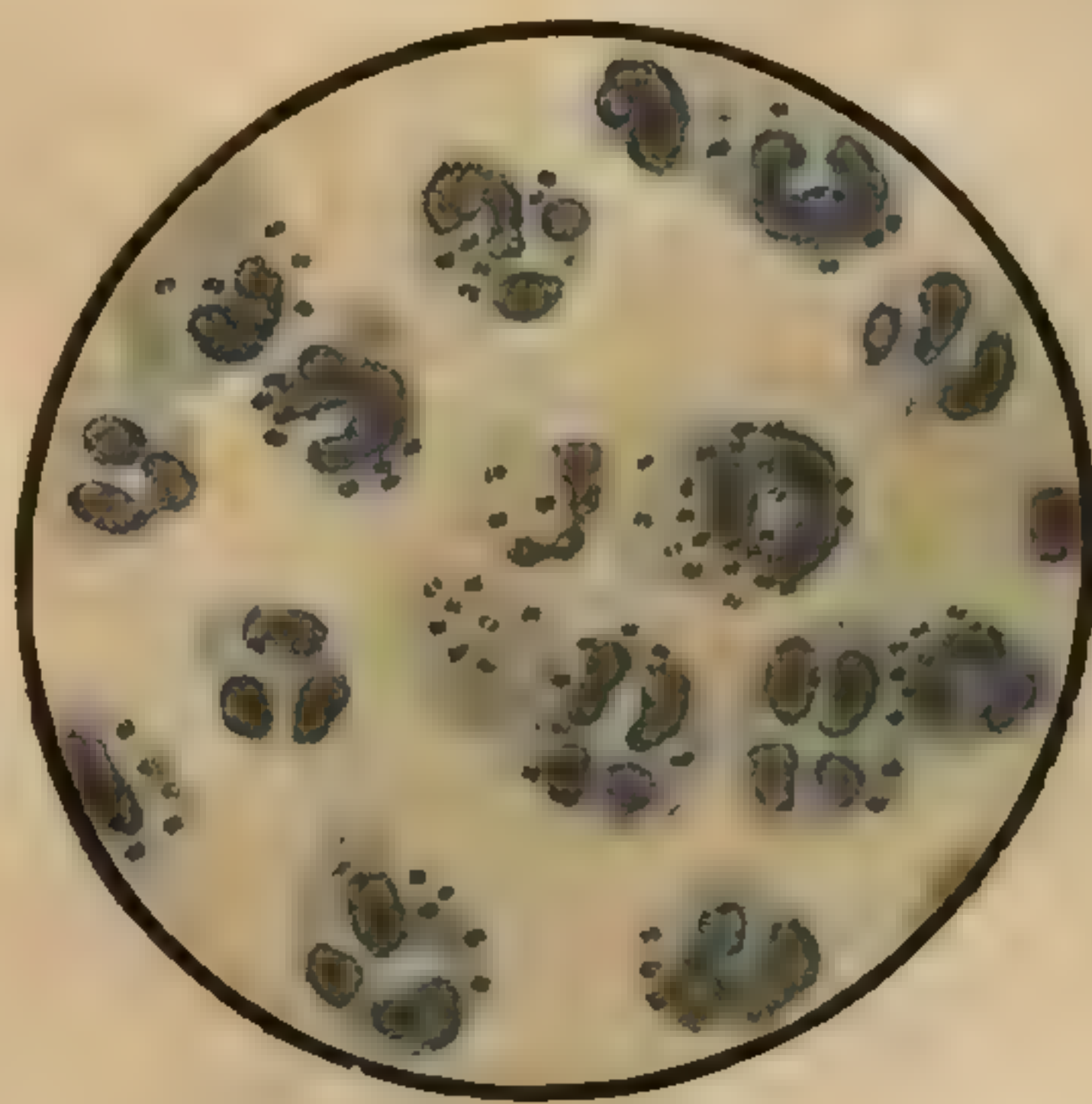


Рис. 173. Гонококк Нейссера. Окраска метиленовой синькой.



морфологии. В течение заболевания гонимые округлым, раздутым, раздувающимися, могут быть, отчего они и ветвятся, разветвляются. Подразделяются

в течение заболевания гонимые округлым, раздутым, раздувающимися, могут быть, отчего они и ветвятся, разветвляются. Подразделяются

2) Локализация п...  
...на слизистых  
...цилиндрическим эпите...  
У мужчин гонимые  
...испускательного канала  
...всего полового и моче...  
...бартолины, в железах  
...оболочку матки и  
...фаллопиевых труб  
...уретра и слизистых  
...ройные вагиниты  
...составляют редкие  
...группируется редкие  
...лесс. Наблюдается

1 Овчинни



В полости рта встречаются два основных вида спирохет: *Spirochaeta buccalis* и *Spirochaeta dentium*. Первая, как и *Spirochaeta refringens*, отличается толщиной, грубостью и неравномерностью завитков, беспорядочностью движений. Зубная спирохета (*Spirochaeta dentium*) так же тонка и нежна, как и бледная спирохета, но заметно короче последней (3—4 завитка), и завитки ее расположены под более острым углом.

## ГОНОКОКК

(*Gonococcus* s. *Neisseria gonorrhoeae*).

1) **Морфология.** Возбудитель гонорреи — гонококк (рис. 172 и 173) — был открыт Нейссером в 1897 г. Гонококк паразитирует только у человека. Он имеет форму не совсем правильных кокков, соединенных попарно, причем обращенные одна к другой стороны уплощены или даже несколько вогнуты, наподобие почки или кофейного зерна. На высоте болезни и в острых случаях кокки почти исключительно лежат в протоплазме лейкоцитов, причем лейкоциты иногда сплошь заполнены ими. Число их в одной клетке чаще всего 20—30, но иногда доходит до нескольких сот. Фагоцитированные гонококки не умирают, а продолжают размножаться в лейкоцитах.

Гонококки делятся попеременно во взаимно перпендикулярных плоскостях, отчего они и встречаются в виде маленьких кучек и никогда не образуют цепочек. Подвижностью они не обладают, при окраске по Граму обесцвечиваются.

В течение заболевания гонококк в патологическом материале у одного и того же больного может изменяться существенным образом: он может становиться округлым, раздутым или же мелким, сморщенным; наряду с грамотрицательными, могут встречаться грамположительные экземпляры (Аш, Финкельштейн и Тимохина). Особый интерес представляют изменения морфологии гонококков при пенициллинотерапии<sup>1</sup>. Гонококки при лечении пенициллином обычно исчезают из отделяемого через 12—24 часа. Уменьшение их количества начинается уже вскоре после первой инъекции, причем в первую очередь почти исчезают внеклеточно расположенные, а затем появляются крупные округлые кокки, частью резко, частью бледно окрашенные, или же удлиненные диплококки. В отдельных случаях изменяется и отношение гонококков к окраске по Граму. Таким образом, при пенициллинотерапии гонококк теряет свои основные признаки. Аналогичные изменения морфологии гонококка наблюдаются и при лечении сульфонамидами.

2) **Локализация поражения.** Гонококки паразитируют почти исключительно на слизистых оболочках человека, преимущественно выстланных цилиндрическим эпителием.

У мужчин гоноррея обычно начинается с острого воспаления мочеиспускательного канала; в дальнейшем она может вызывать воспаление всего полового и мочевого аппарата. У женщин она первично поражает бартолиниевы железы или влагалище, распространяется на слизистую оболочку матки и может вызывать тяжелые воспалительные заболевания фаллопиевых труб и яичников. Попутно у женщин может быть поражена уретра и слизистая прямой кишки. Гоноррея не щадит и детей. Гонорройные вагиниты и вульвиты у девочек в раннем возрасте отнюдь не составляют редкости; на внутренние половые органы у детей процесс распространяется редко, но уретра и прямая кишка могут вовлекаться в процесс. Наблюдается также гонорройное воспаление конъюнктивы глаза.

<sup>1</sup> Овчинников Н. М., Вестник венерологии и дерматологии, № 2, 1948.



3) **Методика исследования.** Исследованию на присутствие гонококков у мужчин подвергают отделяемое уретры, простатический сок, а иногда и сперму, у женщин, как правило, одновременно отделяемое вагины, цервикального канала, уретры, реже слизистой прямой кишки; у детей — отделяемое вульвы, вагины, уретры и слизистой прямой кишки.

а) **Взятие материала.** У мужчин отделяемое уретры желательно брать утром до первого мочеиспускания. Предварительно обмывают отверстие уретры слабым дезинфицирующим раствором; затем, если выделения обильны, то снимают марлевым тампоном первую свободно вытекающую каплю. Прикасаются к тампону краем предметного стекла и размазывают материал тонким равномерным слоем на другом чистом предметном стекле. При скудных выделениях допустимо легкое надавливание на головку члена. У женщин и девочек отделяемое уретры (также после осторожного наружного обмывания) лучше всего брать небольшой ложечкой (типа фолькмановской) с тупыми шлифованными краями или тонким желобоватым зондом. При скудных выделениях рекомендуется указательный палец ввести во влагалище и выжимать им содержимое уретры, которое затем можно снимать зондом или проволоочной петлей. Выделения из шейки матки берут у женщин на гинекологическом кресле под контролем круглого влагалищного зеркала. Женщины не должны перед этим спринцевать влагалище в течение суток. Отделяемое влагалища у девочек берут, как и выделения из уретры, ложечкой или желобоватым зондом. Инструмент крайне осторожно вводят через отверстие в девственной плеве и проводят до заднего свода. Материал из прямой кишки рекомендуется брать через 3—4 минуты после дефекации, сделав промывание небольшим количеством теплого физиологического раствора; вылавливают хлопья слизи из промывной жидкости, рассматривают в нативном препарате и готовят окрашенные мазки.

Простатический сок исследуют в затяжных случаях гонорреи. Исследованию подвергают либо каплю сока, выделившуюся после массажа простаты, взятую прямо на предметное стекло, либо мочу, выделившуюся после массажа, либо же воды, полученные при промывании уретры и после массажа. В последних двух случаях исследуют осадок, полученный при центрифугировании. Материал исследуют в свежем виде и на окрашенных мазках. В свежем препарате, наряду с нормальными элементами — лецитиновыми зернами, амилоидными простатическими тельцами, единичными эпителиальными клетками, находят более или менее значительное количество лейкоцитов, а иногда и эритроцитов. Среди лейкоцитов преобладают нейтрофилы; количество лецитиновых зерен может быть уменьшено, что служит указанием на нарушение функции эпителия простатических альвеол. Сухой мазок в случае недостатка материала можно приготовить из свежего, сняв с него покровное стекло. Высушивать препарат и фиксировать нужно очень тщательно, так как мазки из простатического сока очень часто сползают; фиксацию алкоголем следует предпочесть фиксации пламенем. Для окраски можно довольствоваться метиленовой синькой, так как простатический сок крайне редко содержит посторонние микроорганизмы.

Исследование мочи целесообразно лишь в случае, где выделения из уретры отсутствуют.

Исследовать желательно первую струю (10—15 см<sup>3</sup>) утренней порции мочи. Мочу центрифугируют, сливают с осадка, наливают на осадок физиологический раствор поваренной соли, вторично центрифугируют, из осадка готовят препараты, которые исследуют сначала в свежем виде; потом, сняв покровное стекло, высушивают, фиксируют и окраши-



вают. Если моча доставлена в большом количестве, то вылавливают плавающие в ней нити, кладут их на предметное стекло, отсасывают остатки мочи фильтровальной бумагой, размазывают тонким слоем, фиксируют и окрашивают.

Для хронического уретрита характерны толстые короткие нити, быстро падающие на дно сосуда.

б) Окрашка препаратов. Как правило, окрашивают два мазка: один щелочной синькой Леффлера или слабым водным раствором метиленовой синьки, другой — по Граму. Непременным условием удачной окраски по Граму является приготовление тонкого равномерного мазка и тщательная фиксация его медленным проведением через пламя. Особое внимание должно быть также обращено на момент обесцвечивания: при слишком кратком обесцвечивании гонококки могут сохранить окраску Грама, при слишком продолжительном — ее могут утратить и грамположительные микроорганизмы (стрептококк, стафилококк).

На препаратах, окрашенных синькой, гонококки окрашены интенсивнее, чем клеточные ядра и другие микроорганизмы; на препаратах, окрашенных по Граму, гонококки окрашены в красный цвет фуксина (или сафранина).

Могут быть рекомендованы также следующие способы.

Окрашка метилгрюнпиронином. Фиксированный препарат окрашивают 2—5 минут краской следующего состава: метилгрюн — 0,15, пиронин — 0,25, алкоголь 96° — 2,5 см<sup>3</sup>, глицерин — 20 см<sup>3</sup>, 2% раствор карболовой кислоты — 80 см<sup>3</sup>. После окраски обмывают водой, высушивают. Гонококки окрашены в яркокрасный цвет, ядра эпителиальных клеток — в бледносиний, ядра лейкоцитов — в голубовато-зеленый.

Окрашка по Картамышеву<sup>1</sup>. Фиксированный препарат окрашивают 1% метиленовой синькой 1—2 минуты, смывают водой, наливают на 20 секунд соляную кислоту 0,008%, смывают водой и докрашивают дополнительно 2% раствором эозина. Гонококки темносиние на розовом фоне.

Окрашка азур-эозином (см. «Кровь»). Морфологическое исследование) производится для выявления морфологии нейтрофилов и обнаружения эозинофилов, которые нередко содержатся в отделяемом в период выздоровления.

в) Бактериоскопическая картина отделяемого уретры, вагины и цервикального канала. Различают три основные цитобактериоскопические картины.

1. Отделяемое состоит сплошь из гнойных клеток, многие из которых плотно заселены типичными гонококками. Гонококки частью лежат свободно или на поверхности эпителиальных клеток. Других микроорганизмов отделяемое не содержит.

2. Те же клеточные элементы, но без гонококков. Посторонняя флора отсутствует. Эта картина обнаруживается часто при хронической гоноррее. После провокации она может носить гнойный характер (как в первой картине).

3. Небольшое количество дегенерированных лейкоцитов. Обильная посторонняя флора. Появление посторонней флоры является показателем улучшения.

Бактериоскопический метод является основным для обнаружения гонококков. Недостатки метода — трудности дифференцирования гонококков от другой бактериальной флоры, недостаточная частота их обнару-

<sup>1</sup> Врачебное дело, № 11, 1927.



жения. Трудность дифференцирования особенно велика в случаях, леченных пенициллином (см. выше).

Посторонняя флора наблюдается у женщин и детей в отделяемом вульвы, вагины и уретры не только в хронических случаях, но и в острых; в отделяемом шейки матки она обычно отсутствует.

В отношении детского отделяемого принято трактовать результат исследования как положительный только при нахождении вполне типичных форм.

Как сказано выше, гонококки при бактериоскопическом исследовании обнаруживаются далеко не во всех случаях заболевания. При хронических заболеваниях у мужчин положительный результат наблюдается только в 8—20% случаев.

Таким образом, однократный отрицательный результат не доказателен. Это особенно относится к леченым случаям; при леченом остром уретрите отрицательный результат исследования доказателен, только если он получен после провокации, а при леченой хронической форме — если он стойко наблюдается при многократных повторных исследованиях.

### СТРЕПТОБАЦИЛЛА ДЮКРЕЙ-УННА-КРЕФТИНГА

(*B. Ducrey-Unna s. Hemophilus ducreyii*)

Возбудитель мягкого шанкра был впервые описан в России в 1887 г. Петерсеном. Работа Дюкрея была опубликована двумя годами позже. В 1897 г. Петерсеном совместно с Истомановым и Акопянцем выделена чистая культура возбудителя.

Стрептобацилла Дюкрея — тоненькая, короткая грамотрицательная палочка. В отделяемом язвы она может встречаться в виде диплококка, в виде так называемого челнока (*pavette*) — короткой палочки с неокрашенным центром, изредка в виде коротких цепочек. В ткани, выстилающей дно язвы, она образует длинные цепи, лежащие двумя-тремя параллельными рядами и тянущиеся на протяжении нескольких полей зрения. Последняя форма настолько типична, что позволяет поставить распознавание безошибочно, чего нельзя сказать об остальных формах. Поэтому материал для исследования желательно брать из глубины, пользуясь для этого не петлей, а острой ложечкой или хирургическим пинцетом.

Поверхность язвы предварительно вытирают стерильной сухой ватой, после чего соскабливают ложечкой или отрывают пинцетом со дна язвы из-под краев ее кусочки грануляционной ткани. На леченую язву рекомендуется за сутки до исследования положить компресс из физиологического раствора. Из взятого материала делают мазки осторожным размазыванием в одном направлении, высушивают их на воздухе и окрашивают краской Романовского-Гимза или метиленовой синькой и по Граму. Палочка Дюкрея грамотрицательна. Можно красить ее и по Картам-шеву (см. «Окраска гонококков»).

При микроскопировании правильно сделанных мазков видны длинные нити фибрина с заложенными в них лейкоцитами, между ними на бледно окрашенном фоне — описанные выше длинные цепи палочек. При неосторожном размазывании материала цепи разрываются на короткие отрезки. Посторонних микроорганизмов в таких мазках немного.

Для нахождения возбудителя необходимо тщательно просмотреть не менее 2—3 препаратов, обращая особое внимание на обрывки ткани.



Стрептобациллы чаще всего удастся обнаружить по периферии таких обрывков.

Во всех подозрительных случаях необходимо исследовать отделяемое также и на присутствие сифилитической спирохеты, ввиду того что смешанная инфекция встречается нередко. Материал на спирохету надо брать сначала, так как при соскобе грануляции получается кровотечение, сильно мешающее нахождению спирохеты.

### ПАХОВЫЙ ЛИМФОГРАНУЛОМАТОЗ (БОЛЕЗНЬ НИКОЛА-ФАВРА, ЧЕТВЕРТАЯ ВЕНЕРИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ, *Lymphopathia venereum*)

Заболевание было известно давно, но лишь после опубликования работы Дюрана, Никола и Фавра в 1912 г. было окончательно признано как самостоятельное венерическое заболевание. Болезнь встречается повсеместно, но распространена преимущественно в тропических и субтропических странах.

Клинически она характеризуется множественным поражением паховых желез в виде плотных (струмозных) бубонов. Бубоны склонны к нагноению с образованием множественных фистул.

Возбудитель болезни — фильтрующий вирус, так что обычные бактериологические методы для его обнаружения пока не применимы. Вирус удается привить обезьянам, морским свинкам, кроликам и мышам.

1) **Реакция Фрея.** Диагноз ставится при помощи внутрикожной реакции Фрея. В качестве антигена применяется «пусвакцина» приготовленная из гноя, добытого пункцией нагноившейся железы. Выполнение реакции (по Перкелю) сводится к следующему: содержимое ампулы с вакциной встряхивают, стерильным шприцем набирают 0,1 см<sup>3</sup> и вводят тонкой иглой внутрикожно в обмытую спиртом и обсохшую сгибающую поверхность предплечья. Если инъекция сделана правильно, то на месте ее получается круглый волдырь белого цвета, который спустя 10—20 минут исчезает. Учет реакции нужно производить не раньше чем через 48 часов, так как в первые 24—48 часов может наблюдаться и неспецифическая реакция. Специфический положительный результат достигает своего полного развития на 3—5-й день, иногда и позже. На месте инъекции получается папула (или пустула, иногда изъязвляющаяся) в 0,5 см в диаметре и больше, окруженная ободком розоватого или красного цвета. Ободок обычно исчезает через 1—2 дня. Реакция может сопровождаться повышением температуры.

Реакция Фрея является специфической, но дает результат не только при клинических явлениях, но и много лет спустя. Отрицательный результат ее не доказателен.

2) **Формоловая реакция (Гате-Папакоста).** При болезни Никола-Фавра можно пользоваться с диагностической целью также и формоловой реакцией, так как она в громадном большинстве случаев (свыше 80%) дает положительный результат.

Методика реакции: к 1 см<sup>3</sup> свежей активной сыворотки приливают 2 капли продажного формалина, пробирку закрывают и оставляют стоять при комнатной температуре. Реакция считается положительной, если не позже чем через 24 часа наступает свертывание сыворотки.



## ОТДЕЛ ШЕСТОЙ

### ВОЗБУДИТЕЛИ КОЖНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

---

#### ГЛАВА ПЕРВАЯ

#### ГРИБКОВЫЕ БОЛЕЗНИ (МИКОЗЫ)

Патогенные грибки относятся к паразитам растительного происхождения. Их вегетативное тело состоит из мицелиальных нитей различной длины, ширины и структуры, в зависимости от вида грибка. Органами воспроизведения грибков являются споры, протоплазма которых заключена в плотную, иногда двойную оболочку.

Грибки могут поражать различные ткани и органы человека и животных. На практике наиболее часто встречаются поражения кожи и ее придатков. Большинство авторов делит все грибковые поражения кожи (дерматомикозы) на три основных группы. К первой группе относятся отрубевидный лишай (*Pityriasis versicolor*) и эритразма (*Erythrasma*), возбудители которых поселяются в самых поверхностных частях рогового слоя и не вызывают никаких реактивных явлений со стороны кожи. Вторую группу образуют: трихофития, микроспория, парша, эпидермофития и поверхностные дрожжевые поражения кожи и слизистых оболочек. Возбудители этих дерматомикозов обладают способностью поражать, помимо рогового слоя кожи, также ногти или волосы. Третью группу составляют дерматомикозы, возбудители которых развиваются в собственно коже (в дерме) и вызывают хронический воспалительный процесс грануломатозного характера. В результате распространения возбудителя-грибка по кровеносным и лимфатическим путям кожный процесс может осложняться поражениями внутренних органов. К этой группе относятся: бластомикоз, споротрихоз, хромомикоз и актиномикоз.

Наибольшее практическое значение имеют дерматомикозы: трихофития, микроспория, парша и эпидермофития. Заболевания эти имеют значительное распространение и отличаются большой контагиозностью. Дети, больные трихофитией, микроспорией и паршой, не допускаются в детские коллективы до излечения. Лечение этих дерматомикозов связано со значительными трудностями и требует длительного времени.

За годы советской власти достигнуто резкое снижение грибковых заболеваний; однако еще и в настоящее время они имеют значительный удельный вес в общей массе кожных болезней.

Одним из важнейших условий успешной борьбы за ликвидацию дерматомикозов как массовых заболеваний является правильная и ранняя их диагностика, основанная на данных микроскопического и культурального исследования патологического материала с очагов поражения.



## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

1) **Взятие материала.** Важнейшее значение для получения надежных результатов лабораторного исследования имеет правильная техника взятия материала как для микроскопического исследования, так и для посева на питательные среды. Следует по возможности избегать взятия материала с очагов, подвергавшихся лечению мазями, красками и т. п.; в этих случаях необходимо отмыть очаги поражения водой с мылом и произвести исследование через 2—3 дня. Если все же приходится брать материал для исследования после применения мази, то необходимо обработать его предварительно смесью спирта и эфира в равных частях (на предметном стекле). Необходимо, далее, собирать для исследования по возможности заведомо патологический материал. Так, при поражении волосистой части головы следует подвергать исследованию обломанные или измененные в цвете волосы; при поражениях гладкой кожи рекомендуется пользоваться для исследования чешуйками, обрывками эпидермиса, покрышками пузырьков или пустул, преимущественно с периферической части (т. е. с зоны роста) очага поражения. Примесь здоровых волос и соскоба со здоровых участков кожи усложняет исследование, а при посеве способствует загрязнению культуры посторонней флорой, особенно плесневыми грибами.

Рекомендуется набирать материал в достаточном количестве и сохранять его в пакетах из белой бумаги, на которых пишутся: фамилия, имя, отчество больного, диагноз с указанием локализации процесса и дата взятия материала. Такое хранение материала дает возможность произвести в случае необходимости повторное исследование. В волосах и чешуйках грибки сохраняют жизнеспособность в течение ряда лет.

При поражениях кожи производят соскоб скальпелем или острой ложечкой. Чешуйки, а также покрышки пузырьков или пустул можно захватывать эпидермисным пинцетом. При этом нередко для обнаружения грибков приходится приготовить несколько препаратов.

Для взятия пораженных грибком волос рекомендуется поместить больного перед источником света с таким расчетом, чтобы видеть обломанные волоски в проходящем, а не в падающем свете. Следует при этом провести пальцем несколько раз по поверхности очага в направлении, противоположном росту волос; тогда обломки волос принимают вертикальное положение, вследствие потери ими эластичности, и становятся более заметными среди массы здоровых волос. Волосы удаляются эпидермисным пинцетом и рассматриваются на черном фоне, так как окутанные белым или серым чехлом обломки, а также обесцвеченные волосы легко при этом отличить от здоровых волос.

Необходимо иметь в виду, что пораженные грибком волосы обламываются иногда на уровне кожи и тогда имеют вид так называемых черных точек (напоминающих угри); они могут быть также включены в чешуйки. В первом случае их можно удалить копьевидной иглой или острым скальпелем, во втором — путем соскабливания чешуек; полезно при этом пользоваться лупой, а удаленные черные точки рассматривать на белом фоне. Таким образом, под настольным стеклом в лаборатории рекомендуется постоянно иметь листы белой и черной бумаги (формат 6×9 см).

Для исследования ногтей предварительно удаляют скальпелем верхний блестящий слой и подвергают микроскопии соскоб из более глубоких частей ногтевой пластинки, а также соскоб с подногтевых роговых масс. Очень хороший материал для микроскопического исследования и посева можно получить (в виде порошка), пользуясь бормашиной или дрелью.



2) Микроскопическое исследование. Для обработки и просветления роговых образований кожи (волос, чешуек и ногтей) пользуются едкой щелочью (15—30% КОН или 10—15% NaOH). За неимением едкой щелочи можно пользоваться 10% раствором уксусной кислоты или 10% раствором аммиака (т. е. продажным нашатырным спиртом).

Исследуемые чешуйки кожи или ногтей предварительно измельчаются или расщепляются прокаленными на огне препаровальными иглами или копьевидным ножиком; волосы разрезаются на мелкие частицы. Все эти манипуляции следует производить на стекле, помещенном на черном фоне. Мелкие частицы исследуемого материала помещают на середину предметного стекла, опускают на них каплю едкой щелочи, затем осторожно накладывают покровное стекло; излишек щелочи, выходящей за пределы покровного стекла, должен быть удален при помощи полоски фильтровальной бумаги. Препарат в таком виде осторожно подогревают, проводя 3—4 раза через пламя горелки, и исследуют под микроскопом. Если препарат недостаточно просветлился, то его снова также осторожно подогревают до полного просветления. Неосторожное подогревание и закипание щелочи ведут к выпадению кристаллов, а также к разрушению волоса и нарушению взаиморасположения волоса и элементов грибка. Можно исследовать материал без подогревания, оставив его в щелочи на полчаса — 2 часа; при этом получается ясная микроскопическая картина с точным сохранением расположения элементов грибка.

При наличии толстых чешуек рекомендуется после подогревания слегка надавить на покровное стекло; тогда становятся видными элементы грибка, расположенные между слоями эпителиальных клеток. В некоторых случаях приходится просматривать препарат повторно на следующий день; при этом перед микроскопированием нужно подвести под покровное стекло каплю воды, так как за это время препарат обычно высыхает.

При отрицательном результате исследования кожных чешуек и особенно соскобов с ногтевых пластинок и одновременном наличии подозрительной на грибковое заболевание клинической картины применяют способ обогащения по Черногубову: возможно большее количество хорошо размельченного материала помещают в пробирку, заливают 4—5 см<sup>3</sup> 30% КОН и 2 см<sup>3</sup> воды, кипятят несколько раз в течение 1 часа, затем центрифугируют, сливают жидкость и исследуют осадок под микроскопом.

Гной (из пустул, пузырьков, абсцессов, узлов, свищевых ходов), собранный петлей, пипеткой, путем выдавливания или шприцем, исследуется на предметном стекле в щелочи или глицерине; жидкий гной исследуют непосредственно под покровным стеклом, без разведения щелочью. Приготовленные тем или иным способом препараты исследуются сначала со слабой сухой системой для предварительной общей ориентировки и обнаружения подозрительных элементов, а затем с большим увеличением.

Окраска препаратов волос применяется очень редко. Лучшим методом окраски грибков является видоизмененный способ Амана. Состав краски: *Acidi carbolicici crystallisati* 20,0; *Acidi lactici* 20,0; *Glycerini* 40,0; *Aq. destill.* 20,0. После осторожного подогревания и растворения всех этих ингредиентов добавляют 0,05 г краски (синьки). Окраска производится после предварительной обработки щелочью, которая затем отмывается водой и отсасывается фильтровальной бумагой.

При микроскопии в чешуйках кожи и соскобах ногтей, а также в гною, слизи, мокроте элементы грибка имеют вид нитей разной длины и толщины, септированных или распадающихся на членики, спорулированных и несептированных, в зависимости от вида грибка, вызвавшего заболевание, а также от стадии процесса. Следует иметь в виду, что



один и тот же вид грибка может давать различные микроскопические картины нитей в чешуйках; кроме того, различные виды грибков дают нередко весьма сходные микроскопические картины. В ответе лаборатории не может быть поэтому определен вид грибка по его микроскопической картине в чешуйке, и должно быть дано точное описание характера мицелия и спор: толщина, длина, наличие перегородок, характер ветвления, характер преломления света и т. д.; должна быть указана группировка спор, их величина, форма, наличие оболочки (одноконтурной, двуконтурной), капсулы и т. п.

В ряде случаев наличие жирового детрита или зерен кератогиалина дает повод к смешению жировых капелек со спорами грибка, в частности, с дрожжевыми клетками. Нужно иметь в виду, что капли жира, масла и зерна кератогиалина характеризуются разнообразной величиной, тогда как споры имеют относительно одинаковую величину и сильно преломляют свет; дрожжевые клетки часто почкуются. Волокна шерсти, хлопка, а также обрывки растительных волокон могут иногда симулировать нити мицелия; однако в отличие от мицелия все эти образования характеризуются отсутствием резкого преломления света, резких контуров, зеленоватого блеска; концы этих образований обычно неровные, заостренные, бахромчатые или прямоугольные, тогда как концы мицелиальных нитей обычно закруглены. Распознаванию мицелия способствует наличие перегородок, хотя бы и очень редких. Во всех сомнительных случаях необходимо просмотреть весь препарат, а иногда и несколько препаратов как при малом, так и при большом сухом увеличении.

**3) Получение культуры грибка.** В настоящее время культуральная диагностика дерматомикозов приобрела важнейшее значение. Определение вида грибка позволяет не только изучать пути и источники распространения грибковой инфекции, но в ряде случаев выбрать правильный, наиболее эффективный метод лечения, а также провести соответствующие профилактические мероприятия.

Наиболее употребительна для выращивания большинства грибков среда Сабуро. Для изготовления этой питательной среды требуется: 18 г агар-агара (японского или 20—25 г русского), 10 г пептона, 40 г глюкозы (мальтозы или декстрозы) на 1000 см<sup>3</sup> водопроводной воды. Способ приготовления: в алюминиевую кастрюлю с 700 см<sup>3</sup> водопроводной воды погружают указанное количество хорошо измельченного агара и оставляют для разбухания на 1 час; затем варят до полного растворения агара при постоянном помешивании. В стеклянной колбе с 300 см<sup>3</sup> водопроводной воды растворяют пептон и глюкозу, встряхивая колбу в течение нескольких минут, и затем также подогревают на огне при постоянном помешивании до полного растворения. Далее, содержимое колбы выливают в расплавленный агар, не прекращая при этом помешивания. Смесь фильтруют, разливают в пробирки, которые затем стерилизуют в автоклаве в течение 20 минут при 1,5 атм. давления. В заключение скашивают среду в пробирках и оставляют их в таком положении до застывания.

На сахарсодержащих средах дерматофиты претерпевают в процессе старения изменения дегенеративного характера (плеоморфизм), поэтому для более длительного сохранения первоначального характера культуры употребляется так называемая среда сохранения Сабуро. Эта среда содержит те же ингредиенты, но без сахара, и готовится так же, как пробная среда Сабуро.

Для выращивания дерматофитоз можно с успехом пользоваться также сусло-агаром: заводское пивное сусло, содержащее обычно от 15 до 20%



различных углеводов, разводится водой до 7% содержания сахара (определение сахариметром). К 1 000 см<sup>3</sup> сусла добавляют 15—18 г агара и стерилизуют в автоклаве при таких же условиях и с такой же дальнейшей обработкой, как при изготовлении среды Сабуро.

При пользовании указанными ингредиентами и описанной методикой изготовления реакция питательной среды оказывается слабокислой, в пределах  $pH = 6,0 - 6,7$ , и является оптимальной для выращивания большинства дерматофитов.

Для изучения морфологии грибка в культуре пользуются так называемыми гигантскими колониями; для этой цели производится посев в плоскодонные колбочки емкостью 150—200 см<sup>3</sup> со слоем питательной среды до 2—3 см толщиной.

В известных случаях применяются овощные среды. Наиболее употребительны морковь и картофель. После удаления кожицы морковь нарезают на кусочки  $2 \times 4$  см, вымачивают в растворе глицерина (40 г), виннокаменной кислоты (2 г) и дистиллированной воды (1 000 см<sup>3</sup>) в течение 5—10 часов. На дно пробирки кладут плотный комочек ваты, затем наливают жидкость, в которой вымачивалась морковь, с таким расчетом, чтобы ею был пропитан весь комочек ваты и уровень ее не превышал нижнего края моркови, помещаемой на комочке ваты. Далее, следует стерилизация в автоклаве при 115° в течение 15 минут.

Из жидких питательных сред наиболее употребительны сахарный бульон Сабуро, содержащий те же ингредиенты, что и плотная среда Сабуро, но без агар-агара, а также пивное сусло.

Для посева на питательные среды патологический материал измельчают на предметном стекле прокаленными и затем охлажденными препаровальными иглами, после чего переносят платиновой петлей на поверхность питательной среды. На косой агар в пробирке засевают 3—4 частицы материала на расстоянии 1 см одна от другой. Платиновая петля каждый раз прожигается и затем охлаждается и увлажняется прикосновением к питательной среде. При посеве волос засевают обычно 1—2 пробирки; для получения культуры грибка из чешуек кожи и ногтевых пластинок необходимо произвести посев в значительно большее число пробирок.

При посеве следует строго соблюдать следующие основные правила, чтобы избежать загрязнения и застоя среды плесенью: 1) засеивать по возможности заведомо патологический материал, хорошо размельченный; 2) по возможности освобождать пораженные волосы от чешуек; 3) не погружать засеваемого материала в толщу питательной среды.

Выращивание дерматофитов производится частью в термостате при 27°, частью при комнатной температуре (не ниже 16—18°).

При загрязнении сапрофитной флорой для получения чистой культуры патогенного грибка приходится делать пересевы с обычными предосторожностями, стараясь при этом не задеть колоний сапрофитов. Рекомендованная некоторыми авторами предварительная обработка патологического материала перед посевом различными дезинфицирующими веществами в настоящее время почти никем не применяется.

## ПОВЕРХНОСТНЫЕ ДЕРМАТОМИКОЗЫ И ИХ ВОЗБУДИТЕЛИ

1) Трихофития (*Trichophytia*). а) Поверхностная трихофития (*Trichophytia superficialis*). Грибки-возбудители поверхностной трихофитии могут поражать гладкую кожу, волосистую часть головы и бороды, а также ногти.



На гладкой коже туловища, конечностей и лица образуются воспалительные пятна более или менее округлых очертаний, разной величины, с приподнятым периферическим ободком, на котором иногда видны мельчайшие пузырьки или корочки, и с отрубевидно шелушащимся центром. У взрослых, больных хронической трихофитией, наблюдается излюбленная локализация очагов в области коленей, голеней, ягодиц, тыльной поверхности кистей и предплечий; при этом очаги отличаются синюшным оттенком, неправильными очертаниями, отсутствием пузырьков по периферии и обратного развития в центре; нередко оказываются пораженными пушковые волосы. На ладонях наблюдается диффузное утолщение рогового слоя и кольцевидное или пластинчатое шелушение.

При микроскопическом исследовании чешуек и покрышек пузырьков среди клеток эпидермиса обнаруживаются нити мицелия, нередко ветвя-

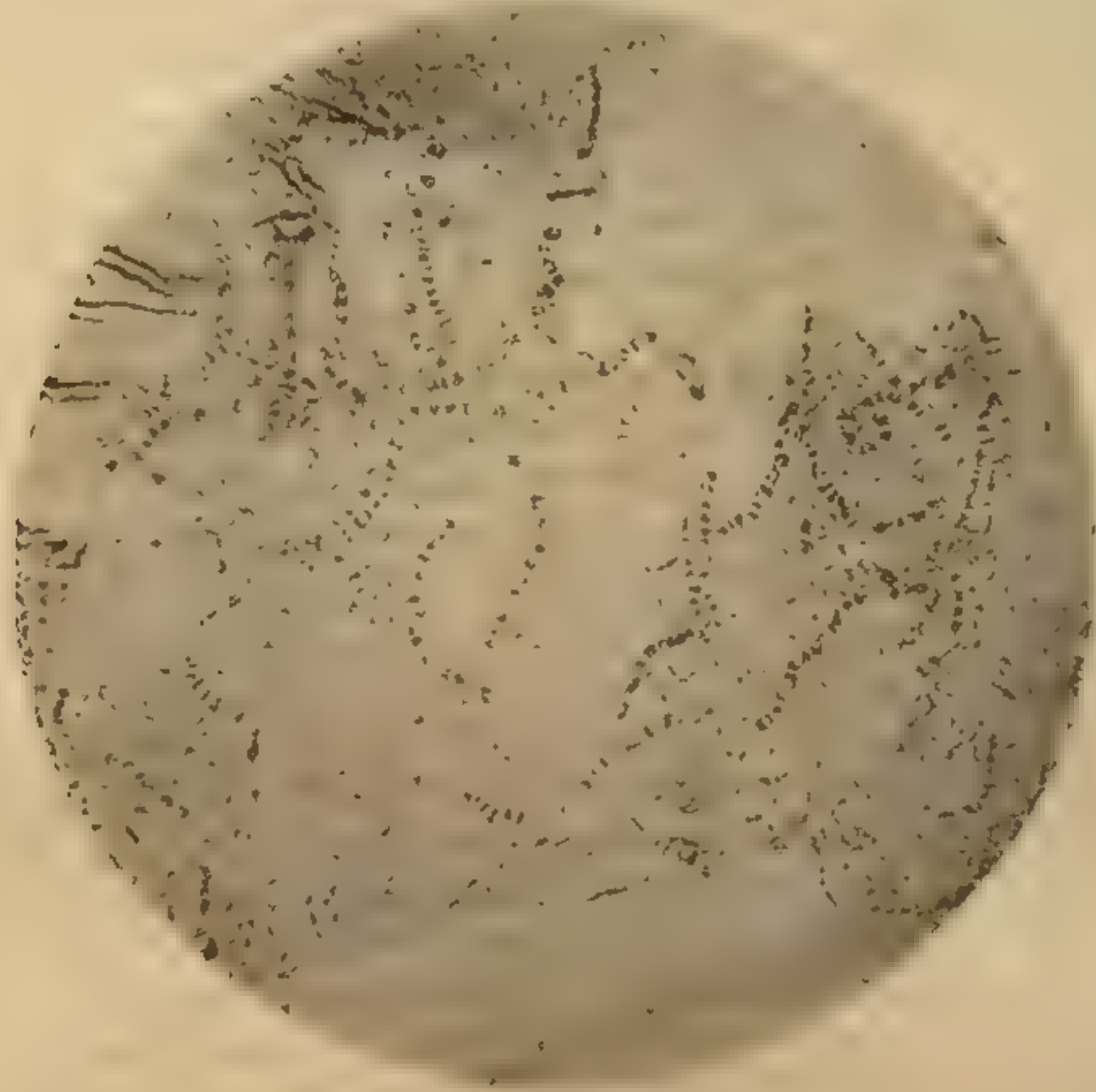


Рис. 174. Нити спорулированного мицелия в чешуйке при поражении грибом *Trichophyton*.

щиеся и большей частью септированные, т. е. разделенные поперечными перегородками на круглые, квадратные или продолговатые членики — сегменты (рис. 174); встречаются также споры круглые или овальные, расположенные цепочками или в виде небольших скоплений. Вид грибка в этих случаях определить нельзя. Для этой цели пользуются культуральным исследованием, и ответ лаборанта ограничивается описанием морфологии обнаруженных грибковых элементов.

Трихофития волосистой части головы характеризуется наличием мелких шелушащихся очагов без воспалительных явлений с поредением здоровых волос. Среди оставшихся здоровых длинных волос видны пораженные грибом волосы, обломанные на 2—3 мм над уровнем кожи. Для исследования удаляют пинцетом именно эти обломки волос, имеющие характерный вид запятых, восклицательных знаков или перекрученных обрывков, большей частью серого цвета. Иногда, особенно у взрослых, больных хронической трихофитией, волосы оказываются обломанными на уровне кожи и тогда имеют вид черных пробочек (черных точек), тор-



чащих в самом устье волосяного фолликула. В ряде случаев обломки волос трудно различимы невооруженным глазом, так как они включены в чешуйки; в этих случаях подвергают микроскопическому исследованию чешуйки с очагов поражения.

При микроскопическом исследовании в едкой щелочи пораженные волосы представляются сплошь заполненными цепочками, состоящими из почти одинаковых крупных круглых, овальных или квадратных спор. Часто обломки волос оказываются настолько густо заполненными спорами, что напоминают мешок, набитый орехами. Если в таких случаях несколько надавить на покровное стекло, то становится отчетливо видным, что споры расположены в виде цепей по длине волоса параллельными рядами и заполняют всю его толщу. Такого рода микроскопическая картина определяется как *Trichophyton endothrix* (рис. 175). В начальных стадиях заболевания, в период внедрения грибка в волос, приходится видеть значительно меньшее количество цепочек только в периферических частях волоса или даже вне его (на волосе); при этом некоторые нити проникают в волос в косом направлении. Такая микроскопическая картина определяется как *Trichophyton ecto-endothrix*.



Рис. 175. Волос, пораженный грибом *Trichophyton endothrix*. Цепи крупных спор, расположенные параллельными рядами внутри волоса.

При поверхностной трихофитии бороды наблюдаются такого же характера шелушащиеся очаги с коротко обломанными волосками. Микроскопически та же картина *Trichophyton endothrix*.

При трихофитии ногтей ногтевые пластинки тусклые, неровные, бугристые, нередко утолщенные или, наоборот, крошащиеся, атрофичные, имеющие сероватогрязную окраску, иногда с желтоватым оттенком. Для микроскопического исследования необходимо брать соскоб из более глубоких частей ногтевой пластинки. Микроскопически обнаруживаются нити мицелия, часто септированные, и споры, как при исследовании соскобов с кожных очагов.

Возбудителями поверхностной трихофитии являются:

*Trichophyton violaceum* — фиолетовый трихофитон — наиболее частый возбудитель трихофитии в нашей стране. На среде Сабуро развитая колония имеет вид полушаровидного диска округлых очертаний, кожистой консистенции, со значительной складчатостью и матовой, а иногда блестящей поверхностью. Окраска колоний фиолетовая с разными оттенками: от красновато-фиолетового, сиреневого до темнолилового (рис. 176). Иногда вырастают бесцветные или желтоватые варианты, носящие название *Trichophyton glabrum*.

При микроскопическом исследовании соскоба с молодой культуры можно видеть лишь тонкие, большей частью короткие нити мицелия с боковыми веточками, отходящими под прямым углом; в старых культурах появляются хламидоспоры (рис. 177, 7).

*Trichophyton crateriforme* — кратеровидный трихофитон. На среде Сабуро вырастают характерные кратерообразные колонии округлых очертаний с мучнистой поверхностью (рис. 178). Цвет колоний белый или



слегка желтоватый (кремовый). Нередко вырастают колонии в виде полусферовидного диска без кратера или с кратером неправильной формы, а также колонии с многочисленными извилинами — церебриформного характера (вариант *Trichophyton cerebriforme*). Микроскопически соскоб с культуры состоит из тонких ветвящихся нитей мицелия с большим количеством эктоспор (алеурий), сидящих непосредственно на мицелии или на коротеньких ножках — стеригмах (рис. 177,5 а и б). Часто споры образуют большие скопления в виде гроздьев винограда (рис. 177,5 в). Иногда можно видеть веретена.

б) Глубокая трихофития (*Trichophytia profunda*). Глубокая трихофития волосистой части головы (*Kerion Celsi*) и бороды (*sycosis parasitaria*) представляется на высоте процесса в виде опухлосвидных образований темнокрасного цвета, напоминающих абсцессы и большей частью покрытых гнойными корками. При давлении на очаг из отверстий фолликулов выступают капли гноя. Пораженные грибком волосы обнаружить трудно. Для исследования необходимо брать волосы с периферической зоны очага; нередко удается обнаружить пораженные волосы, торчащие с обратной стороны корок. Под микроскопом при большом увеличении волос представляется окутанным чехлом из спор, располагающихся цепочками вдоль волоса. При обнаружении цепочек из мелких спор на поверхности волоса лабораторный анализ устанавливает *ectothrix microides* (рис. 179), а при обнаружении крупноспоровых цепочек на поверхности волос — *ectothrix megasporon* (рис. 180). Элементы грибка — нити мицелия и споры — имеются также и внутри волоса сравнительно в небольшом количестве; таким образом, при микроскопировании грибковые элементы представляются расположенными как бы в три слоя: на волосе, внутри волоса и под волосом.

Глубокая трихофития гладкой кожи имеет вид округлых, резко гиперемизированных и инфильтрированных очагов с многочисленными пустулами и корочками на поверхности. Микроскопическая картина грибка в покрышках пустул, корочках и нередко в гною мало отличается от таковой при поверхностной трихофитии, и вид грибка может быть определен только путем посева.

Возбудителями глубокой трихофитии являются: *Trichophyton gypseum* — гипсовый трихофитон — грибок животного происхождения, носителями которого являются мыши, реже другие животные. Культуры этого грибка вырастают при посеве волос, пораженных по типу *ectothrix microides*. Развитая колония на среде Сабуро имеет вид плоского круглого диска часто с пуговчатым возвышением в центре, от которого нередко отходят радиальные борозды; край колонии звездчатый (откуда название «*asteroides*»). Цвет культуры белый или кремовый; поверхность ее как бы посыпана порошком гипса; обратная сторона (изнанка)



Рис. 176. Культура грибка *Trichophyton violaceum* на среде Сабуро.



колонии имеет обычно красноватую или коричневатую окраску (рис. 181). Микроскопически культура состоит из тонких, сравнительно мало ветвящихся нитей мицелия, огромного количества эктоспор (алеурий), расположенных то на боковых поверхностях нитей, то в виде виноградных кистей (рис. 177, 5 а, б и в), то лежащих свободно в виде больших скоплений; далее, характерно наличие спиралей — усиков (рис. 177, 4) и веретен с 3—5 гнездами (камерами) и тупыми закругленными концами (рис. 177, 8 в).

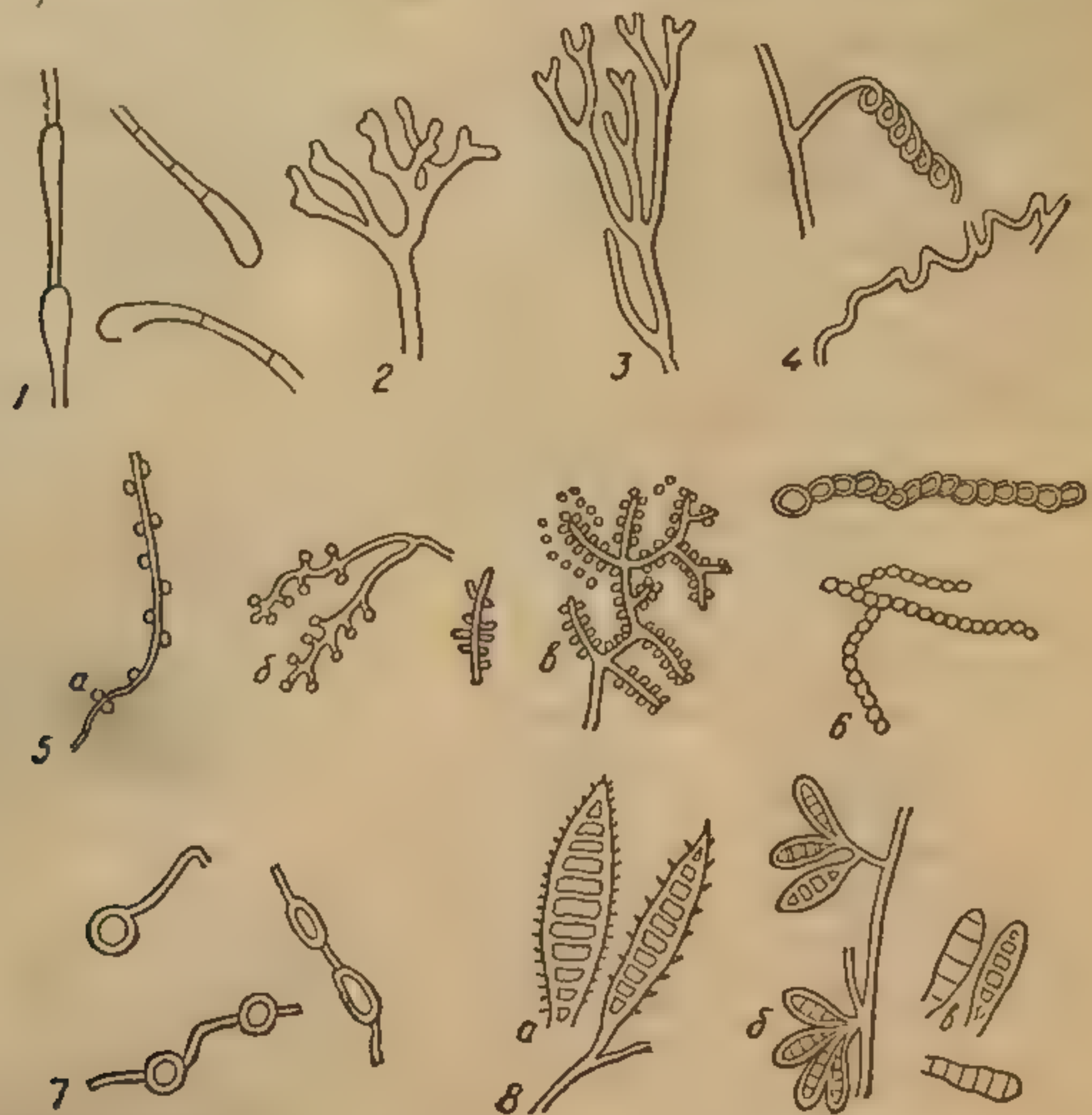


Рис. 177. Схема строения мицелия и спор в культурах дерматофитов.

*Trichophyton faviforme* — фавиформный трихофитон — грибок животного происхождения. Носители — коровы, телята, лошади, реже другие животные. Культуры этого грибка вырастают при посеве волос, пораженных по типу *ectothrix megasporon*. На среде Сабуро чаще всего вырастают колонии, отличающиеся весьма медленным ростом, в виде маленьких бугорков кожистой консистенции с гладкой, а иногда неровной поверхностью (рис. 182); окраска колоний сероватая или желтоватая; в дальнейшем культура постепенно покрывается белым пушком. Эта так называемая дискоидная разновидность фавиформного трихофитона выделяется у больных, заразившихся от коров или телят. Другая разновидность — *Trichophyton faviforme album* — является возбудителем этого микоза у лошадей.

Микроскопически в культуре характерны цепочки из крупных круглых спор (артроспор), напоминающие нити жемчуга (рис. 177, 6).

*Trichophyton rosaceum* — розовый трихофитон — встречается в СССР очень редко, главным образом при поражениях области бороды. Волосы поражаются при этом по типу *ectothrix megasporon*. Культуры грибка имеют вид бархатистых порошковатых колоний сначала белого цвета; лишь через несколько недель колонии приобретают красивую розовую



окраску; изнанка колоний имеет фиолетовый цвет. В центре культуры нередко образуется пуговчатое возвышение, а вся ее поверхность разделяется глубокими радиальными бороздами на отдельные секторы.

Микроскопически в соскобах с культуры можно видеть нити мицелия, немного эктоспор, ракетообразный мицелий, хламидоспоры и очень редко рудиментарные веретена.

2) **Микроспория (Microsporia).** Грибки из рода *Microsporum* поражают гладкую кожу и волосистую часть головы (реже область бороды и усов).

На гладкой коже образуются в общем такого же характера очаги, как при трихофитии. Иногда наблюдается образование двойных колец, причем одно кольцо оказывается включенным в другое. При исследовании чешуек с очагов находят нити мицелия, большей частью короткие, сравнительно мало септированные. На основании микроскопической картины соскоба с гладкой кожи точно определить вид грибка почти невозможно, и следует ограничиться описанием морфологии обнаруженных нитей мицелия.

На волосистой части головы наблюдаются два типа поражений. При животной форме микроспории образуются более или менее крупные очаги правильных округлых очертаний (или один крупный и несколько мелких), на которых все волосы обломаны на 5—8 мм над уровнем кожи, имеют беловато-сероватый цвет и несколько утолщены за счет образования вокруг них чехлика. Кожа в очагах отрубеватно шелушится (как бы посыпана белой мукой). При микроспории, вызванной грибом человеческого происхождения, очаги имеют разную величину и форму, часто сливаются между собой, образуя диффузные шелушащиеся участки. Излюбленная локализация — краевые зоны. При микроскопическом исследовании волос представляется окутанным чехлом из очень мелких спор, расположенных мозаично, без какого-либо порядка. При надавливании на покровное стекло чехол разрушается, кучки спор раздвигаются, и тогда внутри волоса можно видеть (при опускании микрометрического винта) элементы грибка в виде нитей мицелия и кучек спор. Таким образом, и при микроспории микроскопирующий видит элементы грибка, расположенные в трех плоскостях: на волосе, внутри волоса и под волосом (рис. 183).

Культуры возбудителей. *Microsporum lanosum* — пушистый микроспорон [синонимы *Microsporum felineum* (кошачий) и *Microsporum caninum* (собачий)]. Носители этого грибка — кошки и собаки. Развитая колония на среде Сабуро имеет вид пушистого белого диска с пуговчатым возвышением в центре. Нередко колония прорезана радиальными бороздами и имеет желтоватую окраску (рис. 184). При микроскопическом исследовании соскоба с культуры бросается в глаза прежде всего большое количество крупных многокамерных остроконечных веретен с толстыми шероховатыми стенками (рис. 177, 8a); нити мицелия длинные и короткие, извилистые, нередко в виде густых сплетений. В более старых культурах можно видеть так называемый ракетообразный мицелий (с ракетообразным расширением на конце) (рис. 177, 1), изредка хламидоспоры — интеркалярные и терминальные (рис. 177, 7).

*Microsporum ferrugineum* — ржавый микроспорон — грибок человеческого происхождения, повидимому, завезенный в СССР из стран Дальнего Востока. На среде Сабуро культура отличается крайним полиморфизмом. Типичная культура имеет фавиформный характер, напоминая культуры грибов *Achorion Schönleini* и *Trichophyton faviforme*. Цвет ее напоминает цвет ржавого железа (рис. 185). Встречаются порошковатые варианты, а также пушистые; наблюдаются также уклонения в отношении



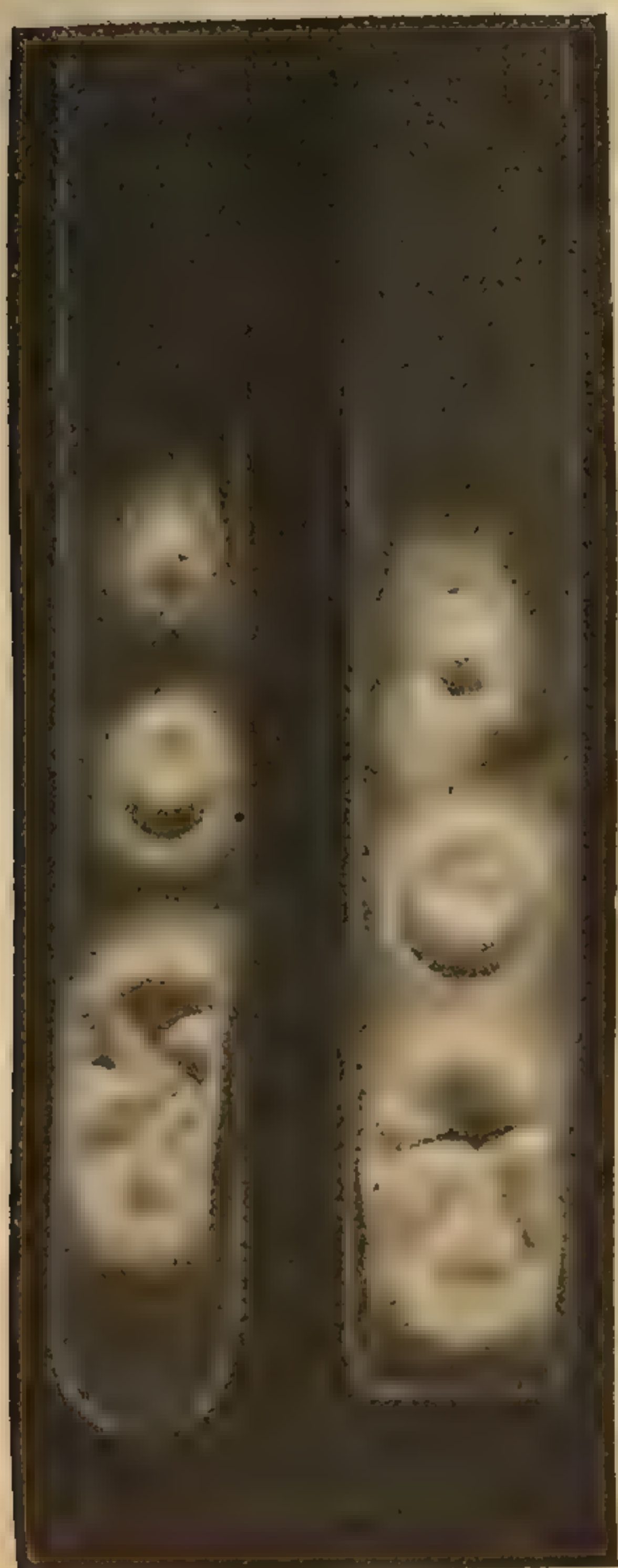


Рис. 178. Культура грибка *Trichophyton crateriforme* на среде Сабуро.



Рис. 179. Волос, пораженный грибом *Trichophyton ectothrix microides*. Цепочки из мелких спор на поверхности волоса.



Рис. 180. Волос, пораженный грибом *Trichophyton ectothrix megasporon*. Цепочки из крупных спор на поверхности волоса.



Рис. 178. Культура грибка *Trichophyton crateriforme* на среде Сабуро.

Рис. 179. Волос, пораженный грибом *Trichophyton ectothrix microides*. Цепочки из мелких спор на поверхности волоса.

Рис. 180. Волос, пораженный грибом *Trichophyton ectothrix megasporon*. Цепочки из крупных спор на поверхности волоса.

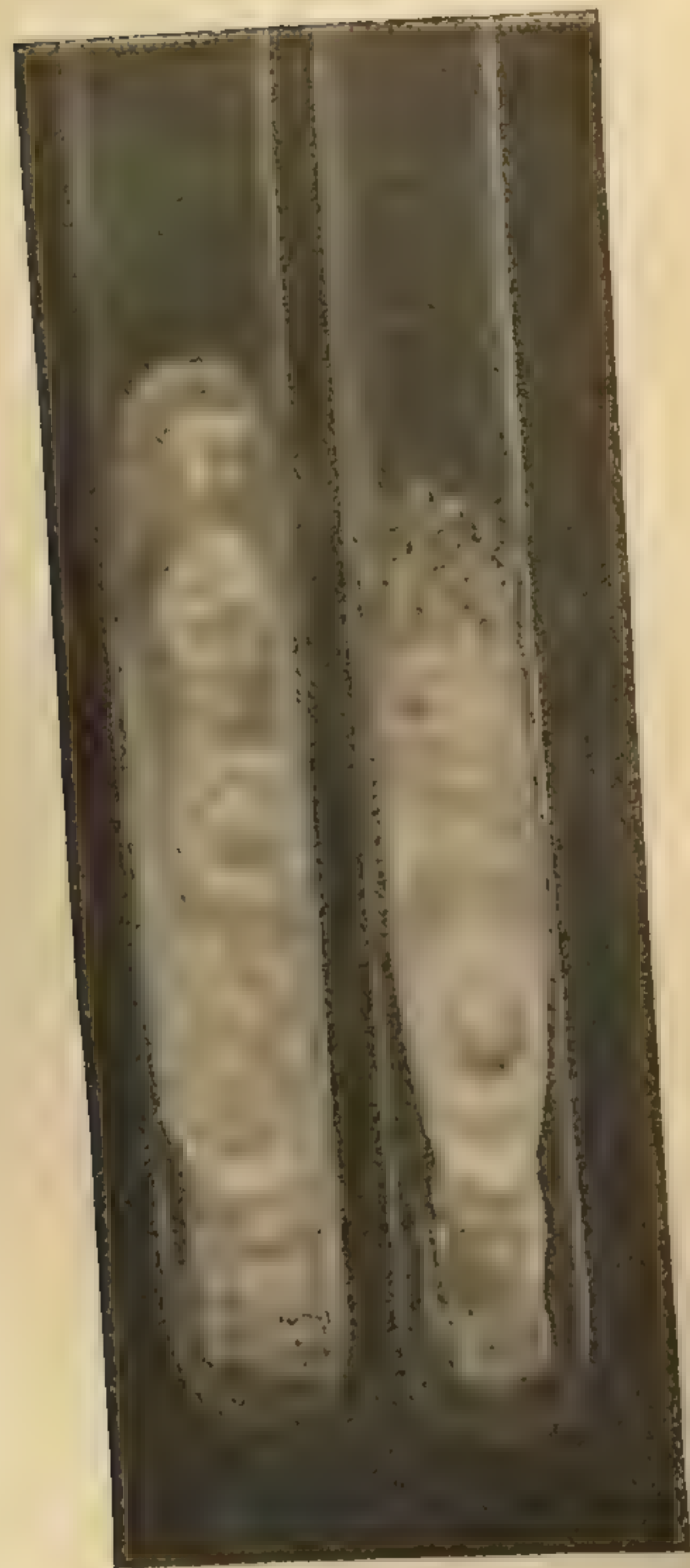


Рис. 181. Культура грибка *Trichophyton gypsum* на среде Сабуро.



Рис. 182. Культура грибка *Trichophyton faviforme* на среде Сабуро.

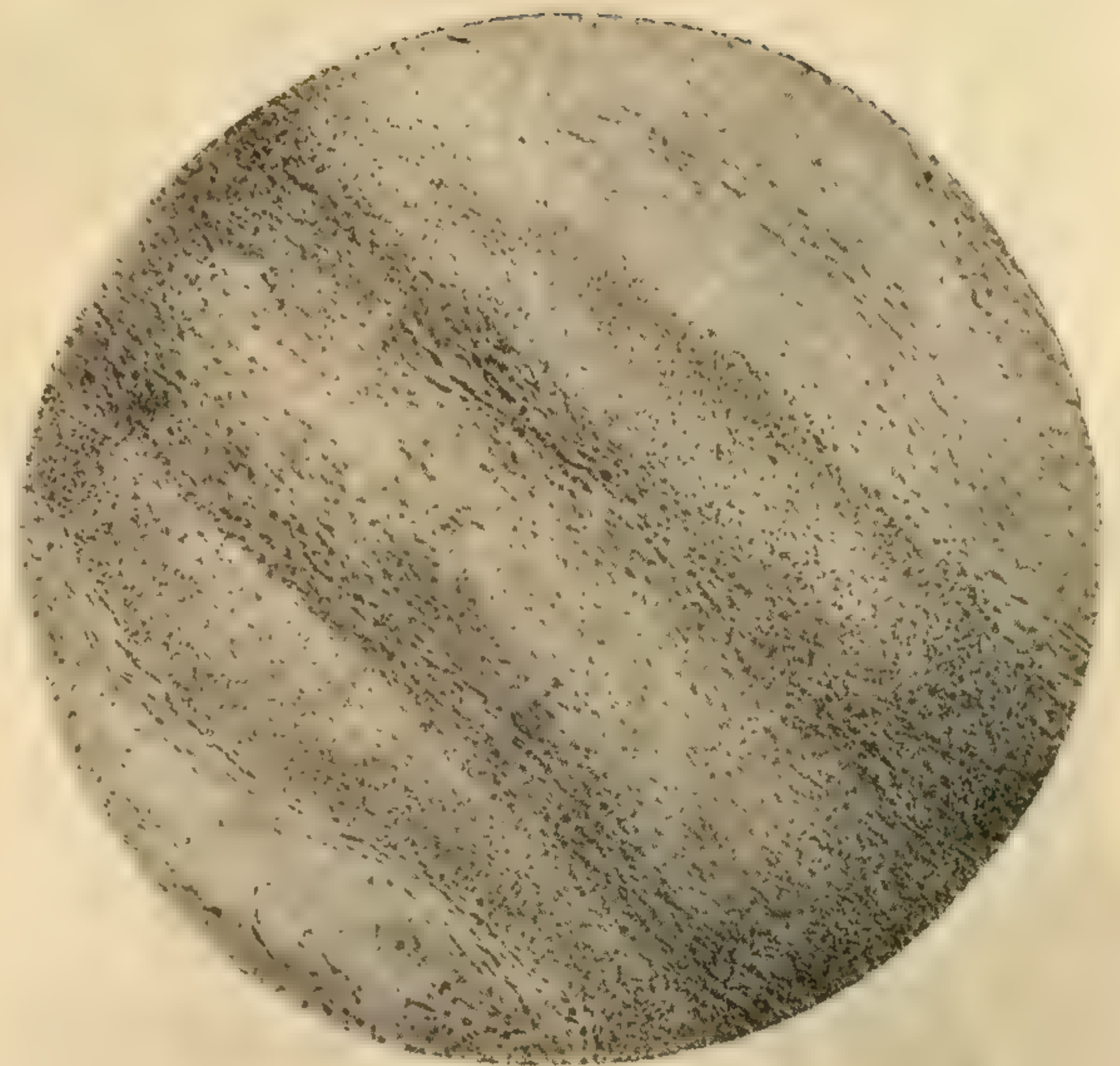


Рис. 183. Волос, пораженный грибом *Microsporum*. Чехол из мелких спор, расположенных мозаично вокруг волоса.



окраски. Микроскопически характерным считается наличие большого количества хламидоспор; веретен и спор не бывает.

3) Парша (Favus). Возбудитель парши, как и возбудители трихофитии, может поражать гладкую кожу, волосистую часть головы и ногти.

На волосистой части головы различают три клинических разновидности парши: а) скутулярную с наличием сухих серно-желтых, блюдечкообразных корочек — скутул (или щитков), сливающихся между собой и образующих сплошные корковые наслоения; по удалении таких щитков кожа под ними оказывается красной, блестящей, атрофичной; волосы в пределах очагов поражения приобретают пепельносерую окраску, теряя свой блеск и эластичность, а не обламываются, как при трихофитии и микроспории; б) импетигиозную, при которой образуются корки желтовато-грязного цвета, и в) сквамозную, характеризующуюся наличием очагов, покрытых обильным напластованием сероватых чешуек. При последних двух формах парши волосы также характерно изменены. В результате длительного существования парши развиваются обширные рубцовые изменения; кожа в области рубцов гладкая, блестящая, тонкая.

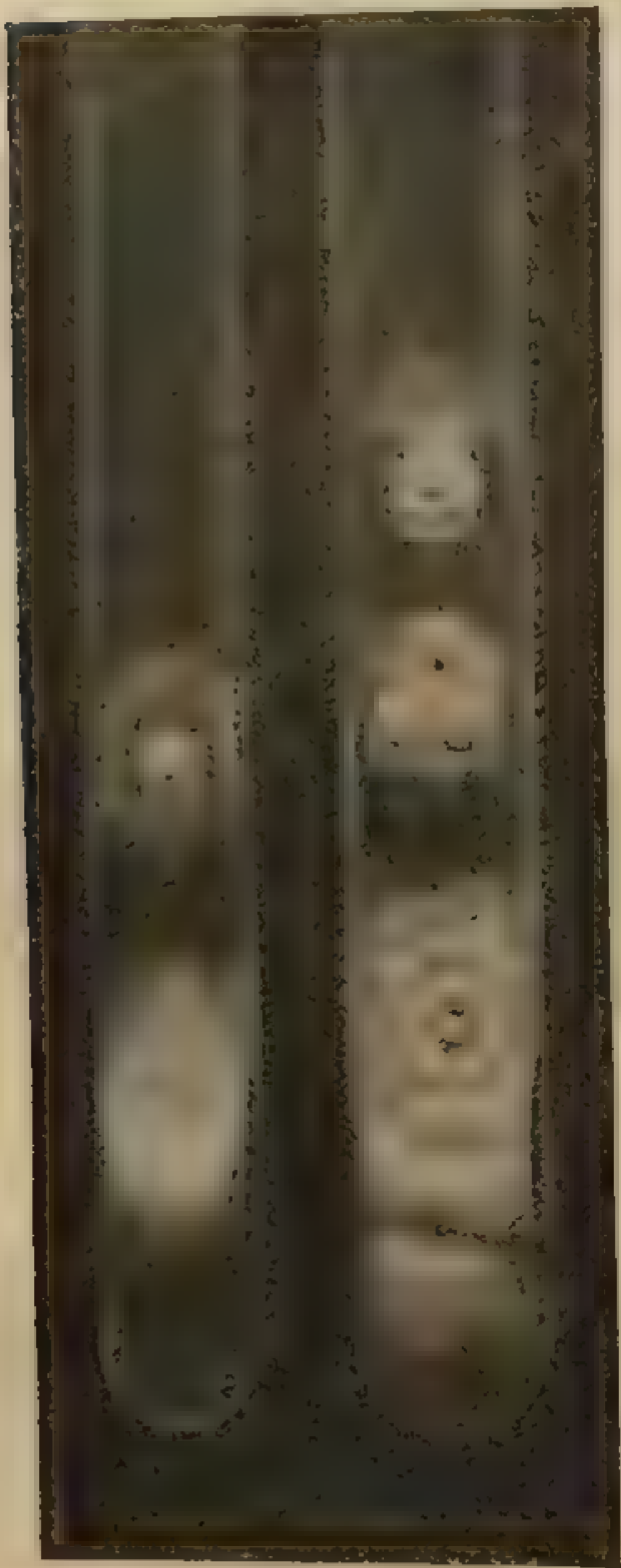


Рис. 184. Культура грибка *Microsporum lanosum* на среде Сабуро.

пузырей воздуха (рис. 186). Следует, однако, иметь в виду, что иногда, особенно при длительном сохранении препарата в щелочи, пузырьки воздуха могут исчезать. Щитки (скутулы) при микроскопическом исследовании представляют собой как бы чистую культуру грибка и состоят из массы коротких, извитых, ветвящихся нитей мицелия и спор разной величины и формы; помимо грибковых элементов, в них можно видеть клетки эпидермиса, капли жира и зернистый детрит.

На гладкой коже при парше образуются такого же характера скутулы, как на волосистой части головы, или гиперемизированные, шелушащиеся пятна, напоминающие очаги трихофитии или микроспории. Нередко оказываются пораженными пушковые волосы. При исследовании кожных чешуек на фоне клеток рогового слоя видны большей частью



короткие нити мицелия, извитые, ветвящиеся, спорулированные, а также кучки полиморфных спор.

При парше ногтей в толще ногтевой пластинки появляются желтые пятна, ноготь постепенно утолщается, становится хрупким, деформируется, крошится и приобретает серовато-желтую окраску. При микроскопическом исследовании наблюдается в основном та же картина, что при поражении гладкой кожи.



Рис. 185. Культура грибка *Microsporum ferrugineum* на среде Сабуро.

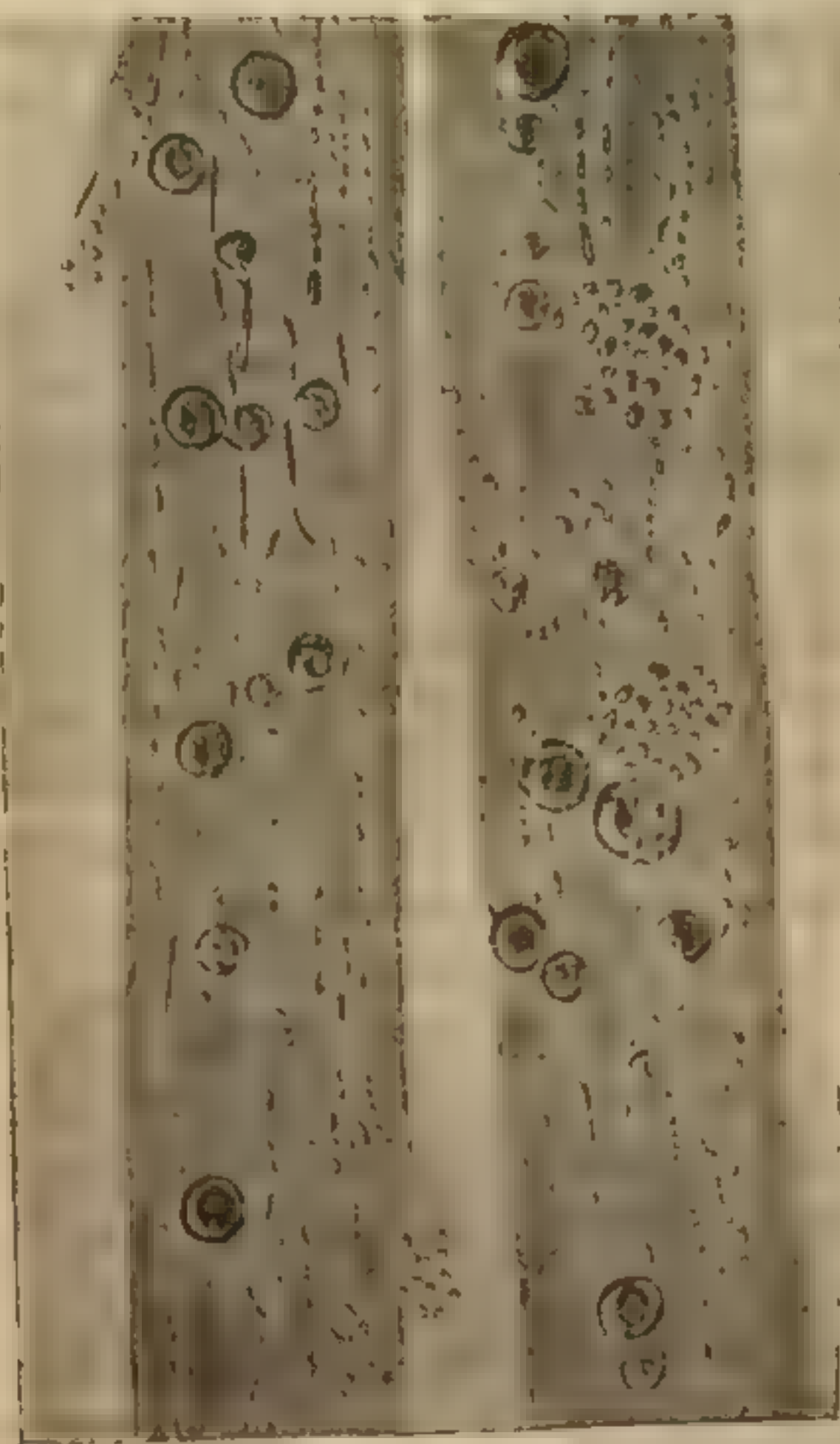


Рис. 186. Волос, пораженный грибом *Achorion*.

Культуры возбудителей парши. *Achorion Schönleini* — единственный возбудитель фавуса в СССР. Развитую культуру на среде Сабуро сравнивают обычно со сморчком (рис. 187). Поверхность колонии морщинистая, сухая, восковидная; цвет желтоватый; иногда колония имеет полупрозрачный характер. Весьма часто колония прорастает питательную среду, и при рассматривании в проходящем свете в толще среды видны лучеобразные выросты, окружающие колонию. В других случаях культура напоминает церебриформную разновидность кратеровидного трихофитона: поверхность порошковатая, цвет беловато-сероватый, имеются мозговидные извилины. Хорошей питательной средой для *Achorion* является морковь.

При микроскопическом исследовании культуры видны большей частью толстые нити мицелия, который образует весьма характерные для фавуса формы: фигуры, напоминающие рога оленя или канделябры (рис. 177, 2 и 3). Наряду с мицелием, имеются хламидоспоры.

*Achorion gypseum* — гипсовый ахорион — грибок животного происхождения, встречается в СССР крайне редко. На среде Сабуро культура имеет вид круглого диска светложелтого цвета или цвета кофе с молоком. Поверхность колонии гипсовидная, как у *Trichophyton gypseum*. В центре колонии пуговчатое возвышение, от которого нередко отходят



радиальные борозды. Край колонии часто имеет белую пушистую каемку и лучеобразные выступы (рис. 188). Микроскопически характерно наличие огромного количества веретен, напоминающих по форме веретена, свойственные культуре грибка *Microsporum lanosum*.

*Achoyion Quinskeanum* — грибок также животного происхождения — возбудитель парши у мышей. У человека встречается очень редко, давая почти исключительно поражения кожи. На среде Сабуро культура имеет вид круглого белоснежного диска, сначала гладкого, позднее с радиальными бороздами; поверхность колонии покрыта нежным пушком. Микроскопически культура состоит из нитей мицелия с боковыми спорами, скоплений спор в виде гроздьев, хламидоспор и веретен с перегородками и без перегородок.

4) Эпидермофития (*Epidermophytia*). Группу эпидермофитии составляют дерматомикозы, вызываемые грибами из рода *Epidermophyton*. Эпидермофитоны поражают только кожу и ногти, но не поражают волос.

а) Паховая эпидермофития. Поражение локализуется в пахово-бедренных складках, реже в подмышечной ямке, под грудными железами у женщин; еще реже наблюдаются очаги на гладкой коже туловища и конечностей, вне складок. Основными элементами поражения являются красные пятна с валикообразно приподнятыми краями, покрытыми мелкими пузырьками, пустулками и корочками, и более бледным шелушащимся центром.

Для микроскопического исследования производится соскоб с периферического валика (покрышки пузырьков, пустул, чешуйки и корочки). При этом можно видеть большей частью несептированные, ветвящиеся нити мицелия; часть нитей распадается на круглые или прямоугольные споры.

б) Эпидермофития стоп. Самое распространенное грибковое заболевание кожи во всех странах мира. Различают следующие основные клинические формы или проявления эпидермофитии: сквамозная эпидермофития стоп, при которой имеет место более или менее выраженное шелушение кожи подошв и межпальцевых промежутков; дисгидротическая эпидермофития стоп, характеризующаяся наличием пузырьков на коже подошв и межпальцевых промежутков, разной величины, то положенных поверхностно, то просвечивающих сквозь роговой слой в виде саговых зерен; интертригинозная эпидермофития стоп с явлениями мацерации боковых соприкасающихся поверхностей пальцев, трещин и эрозий в межпальцевых промежутках; эпидермофития ногтей, причем в толще ногтевых пластинок появляются пятна охряножелтого цвета, а в дальнейшем ногти гипертрофируются или крошатся; эпидермофитиды кистей — высыпания аллергического (вторичного) характера, которые локализуются на коже ладоней, боковых поверхностей пальцев, реже на тыльной поверхности кистей. Принципиальное отличие эпидермофитидов от эпидермофитии заключается в том, что в элементах сыпи (чешуйках и пузырьках) при эпидермофитидах грибки не обнаруживаются, ибо эти высыпания имеют аллергическую природу. Возбудитель эпидермофитии стоп, как правило, не поражает кожи ладоней и ногтей на руках.

в) Руброфития стоп и кистей. За последние годы в СССР появился новый возбудитель эпидермофитии стоп (*Epidermophyton rubrum*), завезенный в нашу страну из Америки и стран Западной Европы. Поражения, вызываемые этим грибом, во многом напоминают хроническую трихофитию взрослых; в отличие от эпидермофитона этот грибок пора-



жает кожу ладоней и ногти на руках и не вызывает высыпаний аллергического характера. Новый возбудитель занимает среднее положение между трихофитами и эпидермофитами, что дало нам основание выделить его, присвоив ему название «руброфитон» (*Rubrophyton*).

Для микроскопической диагностики грибковых поражений стоп пользуются чешуйками с периферии кольцевидно шелушащихся очагов (большой частью в области свода подошвы и ее боковых краев), обрывками белого мацерированного эпидермиса (в межпальцевых промежутках), а также покрывками пузырьков. Материал для исследования отслаивается сначала скальпелем, а затем эпиляционным пинцетом. Для диагностики поражения ногтей следует делать соскобы не только с типично окрашенных в желтый цвет ногтевых пластинок, но и с незначительно измененных в своей окраске ногтей. Весь этот патологический материал обычно обладает большой плотностью, и для его размягчения и просветления требуется более или менее длительная обработка едкой щелочью (с подогреванием).

При исследовании обнаруживаются нити мицелия, иногда самого разнообразного характера, большей частью септированные. Характерными для эпидермофитии считаются нити, распадающиеся на прямоугольные членики, которые располагаются на некотором расстоянии друг от друга, наподобие стрептобацилл (рис. 189). В микроскопических препаратах при эпидермофитии стоп, а также при исследовании пузырьковых элементов на кистях (эпидермофитидов) нередко обнаруживаются своеобразные элементы, иногда весьма напоминающие грибки, так называемые мозаичные грибки (*Mosaic fungi*). Сегменты мозаичного грибка имеют неправильные очертания, иногда причудливую форму, напоминая то споры, то глыбки, то обрывки мицелия, в одних случаях тонкого, в других — толстого. Характерно то обстоятельство, что сегменты эти отделены друг от друга отчетливыми промежутками, более или менее широкими; их края (границы) и углы обычно закруглены. Сегменты мозаичного грибка никогда не имеют перегородок (септ) и не состоят из артроспор. Очень часто эти образования напоминают своеобразную сетку неправильной формы, причем членики располагаются иногда по краям эпителиальных клеток, как бы окаймляя их (рис. 190). Грибок *Epidermophyton* нередко образует членистые нити, причем членики располагаются также на некотором расстоянии друг от друга; однако они располагаются в длину, по ходу нити, имеют ровные края, более или менее мономорфны и никогда не располагаются в виде сетки. При длительном стоянии препарата мозаичный грибок нередко исчезает, а не выявляется более четко, как это имеет место при наличии истинных грибковых элементов. В настоящее время большинство авторитетных исследователей считает артефактом эти обра-



Рис. 187. Культура грибка *Achorion Schönielei* на среде Сабуро.



зования, иногда удивительно напоминающие нити и споры грибка со своеобразным взаиморасположением элементов. Полагают, что мозаичный грибок представляет собой кристаллы холестерина. В случае обнаружения в препарате только мозаичного грибка лаборатория должна дать соответствующее заключение, указав, что истинных грибковых элементов не обнаружено.



Рис. 188. Культура грибка *Achorion gypsum* на среде Сабуро.

Культуры возбудителей. *Epidermophyton Kaufmann-Wolf* — возбудитель подавляющего большинства заболеваний стоп в СССР. На среде Сабуро вырастают белые пушистые, реже порошковатые колонии (рис. 191); изредка наблюдаются колонии кремового цвета, а также с легким розоватым или лимонножелтоватым оттенком. В центре колонии нередко виден бугорок, от которого отходят несколько радиальных борозд. Колонии этого грибка очень напоминают *Trichophyton gypsum* не только в силу их значительного

внешнего сходства, но и в микологическом отношении. Дифференцировать эти культуры иногда удается только путем прививки в кожу морской свинки: гипсовый трихофитон при этом поражает волосы, тогда как эпидермофитон вызывает только поражение кожи.

*Epidermophyton inguinale* — возбудитель паховой эпидермофитии, изредка выделяется при поражении стоп. На среде Сабуро этот грибок образует культуры мучнистого характера, сероватого цвета с зеленоватым оттенком (реже лимонножелтым). В центре колонии — возвышение, от которого отходит множество радиарных или неправильно расположенных борозд (рис. 192). Реже вырастают гладкие колонии. Микроскопически характерно наличие широких веретен с тупым, закругленным концом, сидящих на нитях мицелия большими группами, что напоминает ветки банана (рис. 177, 8 б).

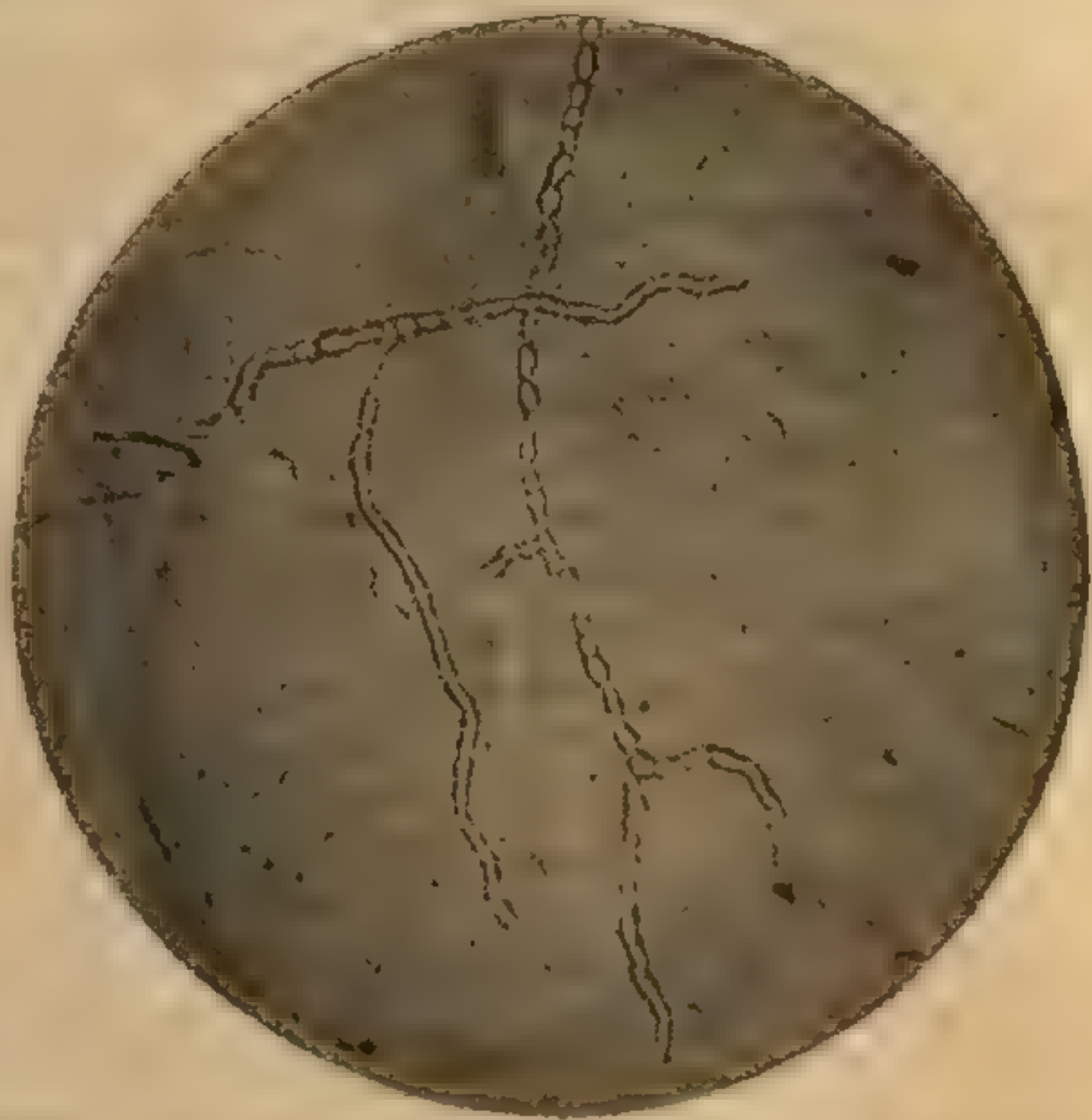


Рис. 189. Элементы грибка *Epidermophyton* в чешуйке.

*Epidermophyton rubrum*, или *Rubrophyton*, — возбудитель руброфитии стоп и кистей. На среде Сабуро вырастают белые пушистые колонии, сначала трудно отличимые от колоний *Epidermophyton Kaufmann-Wolf*. Лишь позд-



нее появляется характерная пурпурно-красная окраска (иногда с фиолетовым оттенком), хорошо различимая с обратной стороны (изнанки) колонии. Микроскопически культура этого грибка также мало отличается от *Eri-dermophyton Kaufmann-Wolf*; правда, веретена встречаются реже, алеурий меньше.

**5) Поверхностные дрожжевые поражения кожи и слизистых оболочек.** Наиболее частой, преимущественной локализацией поверхностных дерматозов, вызываемых дрожжеподобными грибами, являются складки кожи, ногтевые валики и пластинки, а также слизистые оболочки. Течение дрожжевых дерматозов большей частью хроническое.

При поражении кожных складок (паховых, подмышечных, межъягодичных, перианальных, под грудными железами у женщин, меж-

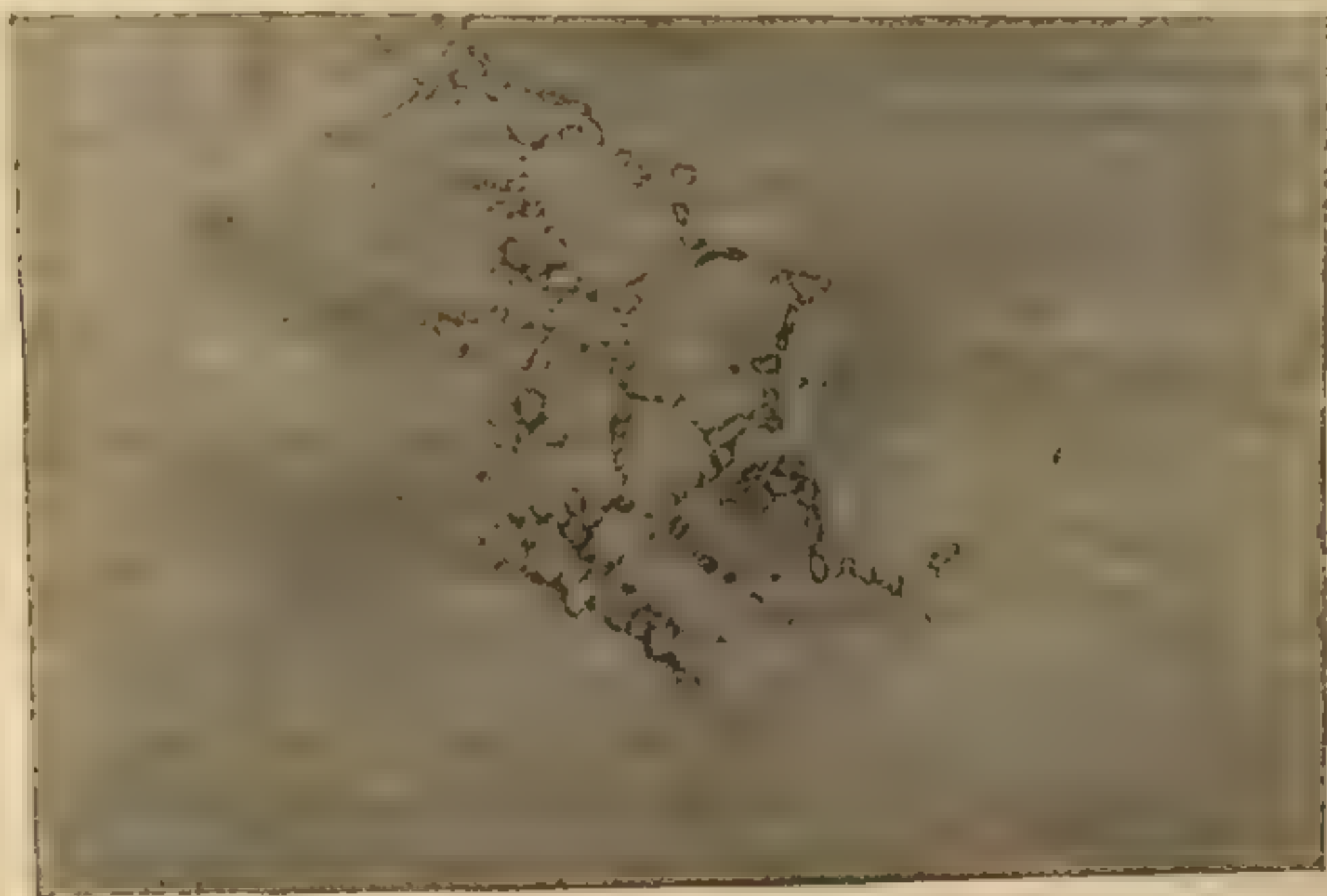


Рис. 190. Мозаичные грибки в чешуйке с кожи подошвы.

пальцевых складок на руках и ногах и др.) характерными признаками являются: отчетливые края очага, значительная мацерация эпидермиса, причем набухший белого цвета роговой слой отделяется в виде пластов, обнажая участки (эрозии) с темно-красной блестящей влажной поверхностью; мацерированный эпидермис окаймляет очаг в виде нависающей над ним бахромки; наличие по периферии очагов поражения в пределах здоровой кожи мелких фокусно расположенных отсевных дочерних элементов — пятен, папул, пузырьков, плоских пустул, эрозий, также окаймленных бордюриком мацерированного белого эпидермиса. Решающее значение для диагностики этих клинических форм имеет результат микроскопического исследования. Материалом для исследования (как и для посева) служат обрывки мацерированного эпидермиса, бордюричек или бахромка, окружающие эрозию, крышечки пузырьков и пустул, чешуйки с шелушащихся пятен и папул. Наиболее ценные результаты можно получить при исследовании отсевных дочерних элементов по периферии очагов поражения. Характерным для микроскопической картины является наличие дрожжевых клеток в виде более или менее значительных скоплений, особенно в форме виноградных гроздьев или так называемых тутовых ягод; клетки имеют круглую или овальную, иногда грушевидную форму и часто почкуются. Для микроскопической картины показательны также наличие тонких, нежных, большей частью коротких, извитых нитей мицелия (рис. 193). Обнаружение в препарате единичных



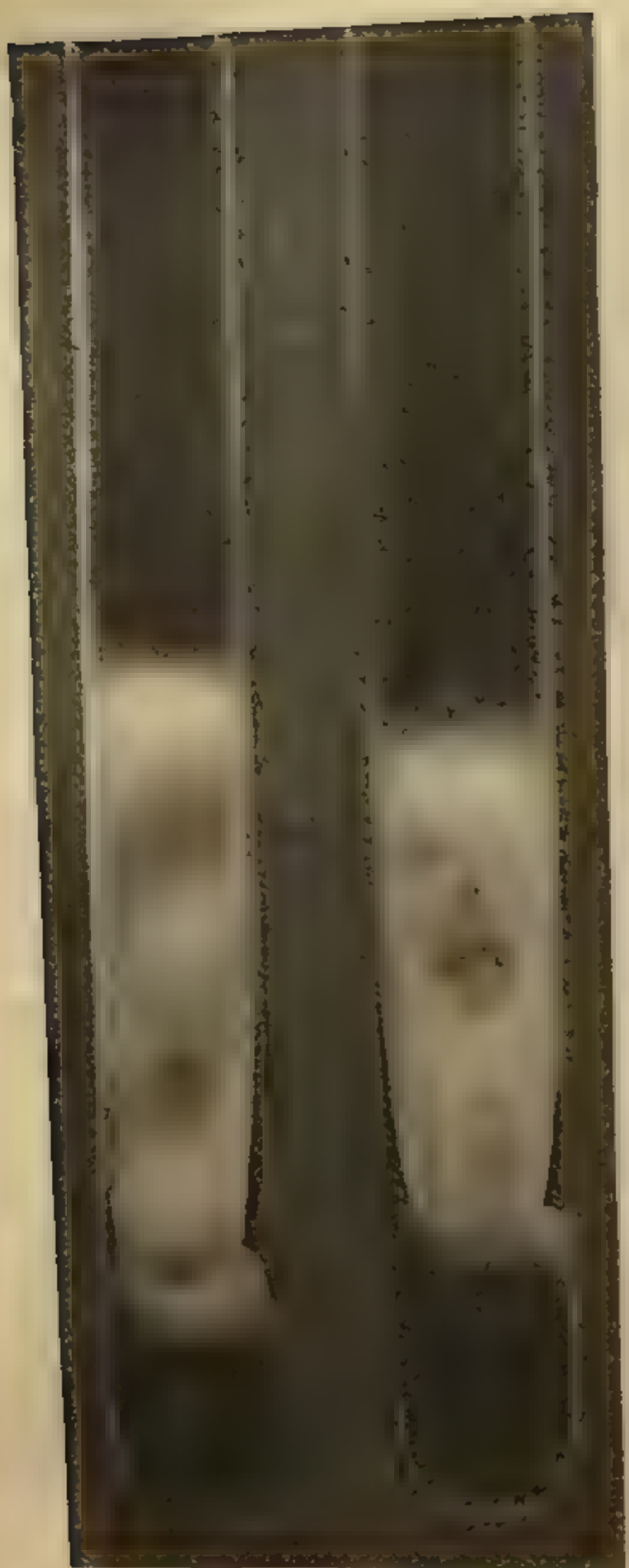


Рис. 191. Культура грибка *Epidermophyton Kaufmann-Wolf* на среде Сабуро.

дерматомикологов считает дрожжеподобные грибки, относящиеся к подсемейству *Mycotoruloideae* и известные медицинским микологам и дерматологам под названием *Monilia* (по систематике Кастеллани). Грибок, который большинством авторов называется *Monilia albicans*, описывался и описывается под самыми различными названиями: *Oidium albicans*, *Endomyces albicans*, *Candida albicans*, *Soor* и др.

Культуральная диагностика поверхностных дрожжевых дерматозов считается трудной, ибо грибки типа *Monilia* могут быть выделены с кожи, слизистых оболочек, а также из испражнений и мокроты здоровых людей. Поэтому получение культуры грибка без одновременного обнаружения упомянутой микроскопической картины при исследовании патологического

почкующихся клеток не дает права считать результат исследования положительным.

Дрожжевое поражение ногтевых валиков и ногтей характеризуется подушкообразной припухлостью ногтевого валика, наличием по его краю серебристых сухих чешуек, отсутствием ногтевой кожицы и коричневатобурым окрашиванием боковых краев ногтевых пластинок. Микроскопическому исследованию подвергают чешуйки с края заднего ногтевого валика, а также соскоб с боковых пигментированных участков ногтя. Можно исследовать также каплю гноя, которую иногда удается выдавить из-под ногтевого валика. При этом чаще всего обнаруживаются характерные кучки дрожжевых клеток, а в чешуйках также и нити мицелия.

Дрожжевые поражения слизистых оболочек [молочница рта, дрожжевой глоссит, дрожжевая ангина, эрозии углов рта (*perlèche*), молочница влагалища у женщин, реже у девочек] характеризуются наличием беловатых, реже желтоватых налетов, сравнительно легко удаляемых, или мацерацией рогового слоя. В соскобах со слизистой (при исследовании налетов в едкой щелочи) обнаруживается та же микроскопическая картина, но, наряду с тонкими, короткими нитями мицелия, можно видеть длинные толстые нити плесневого типа (рис. 194).

Возбудителями поверхностных дрожжевых дерматозов большинство современных

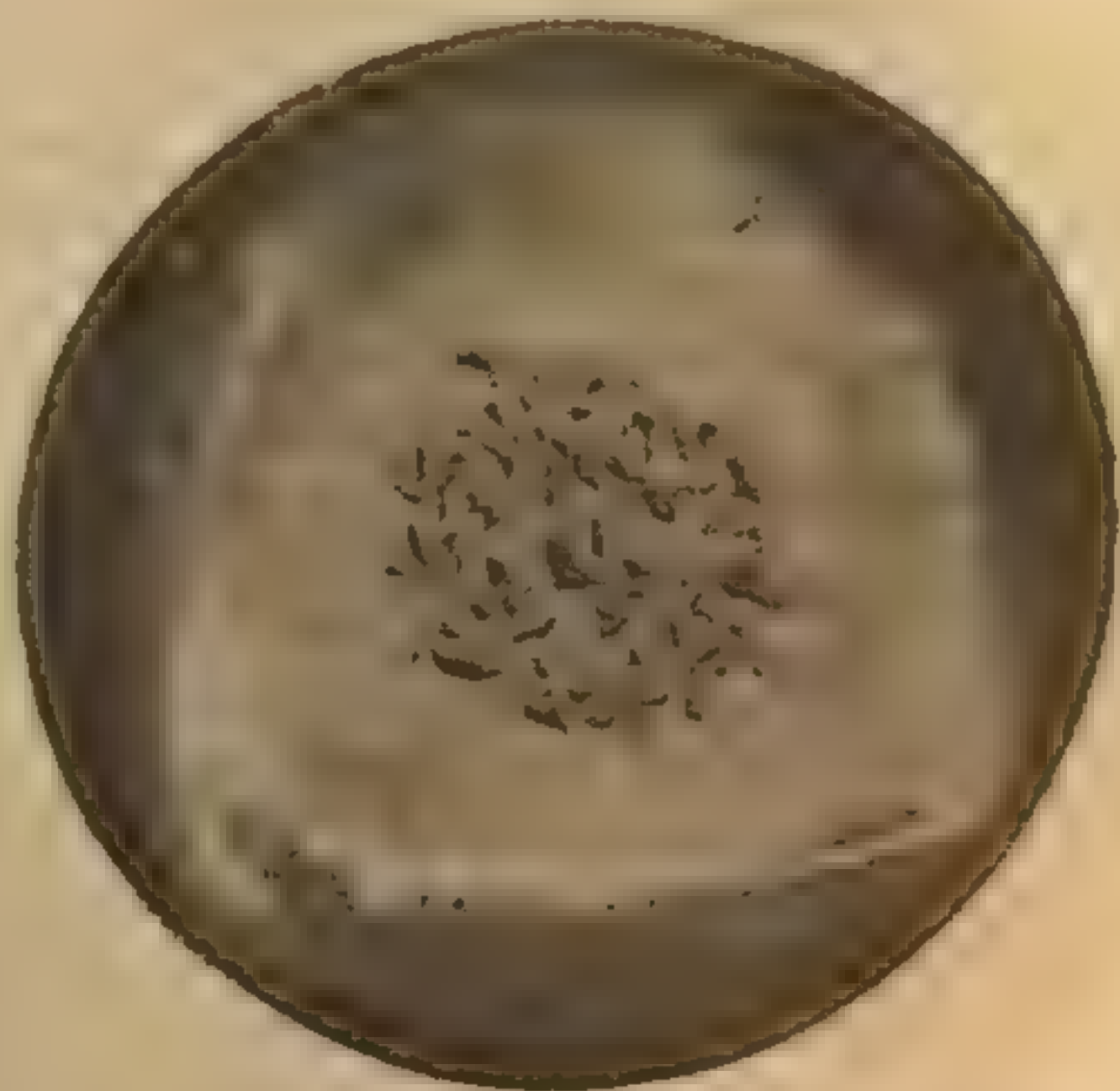


Рис. 192. Культура грибка *Epidermophyton inguinale* на среде Сабуро.



материала с очагов поражения не дает права ставить диагноз дрожжевого поражения.

Культуры этого грибка хорошо растут на среде Сабуро при комнатной температуре и в термостате. Различные виды монилий (*Monilia albicans*, *tropicalis*, *Krusei*, *Piloyi* и др.) образуют различного вида колонии: то сметанообразные, то плотные, кожистой консистенции, белого или кремового цвета, то гладкие, блестящие, то морщинистые, складчатые, матовые (рис. 195). Культуры имеют характерный запах дрожжей. Для точного определения вида монилий пользуются не только их морфологией в культуре, но и их способностью сбраживать те или иные сахара. При микроскопическом исследовании одни виды монилий уже в первые дни роста, наряду с массой дрожжевых клеток, образуют мицелий; у других видов мицелий в колонии грибка появляется лишь через 2—3 недели и позднее после посева на среду Сабуро. На боковой поверхности нитей мицелия, а также на их верхушке образуются гроздья дрожжевых клеток. Различные виды монилий отличаются от дрожжевых грибов *Cryptococcus-Torula* тем, что последние никогда не образуют мицелия в культуре<sup>1</sup>.

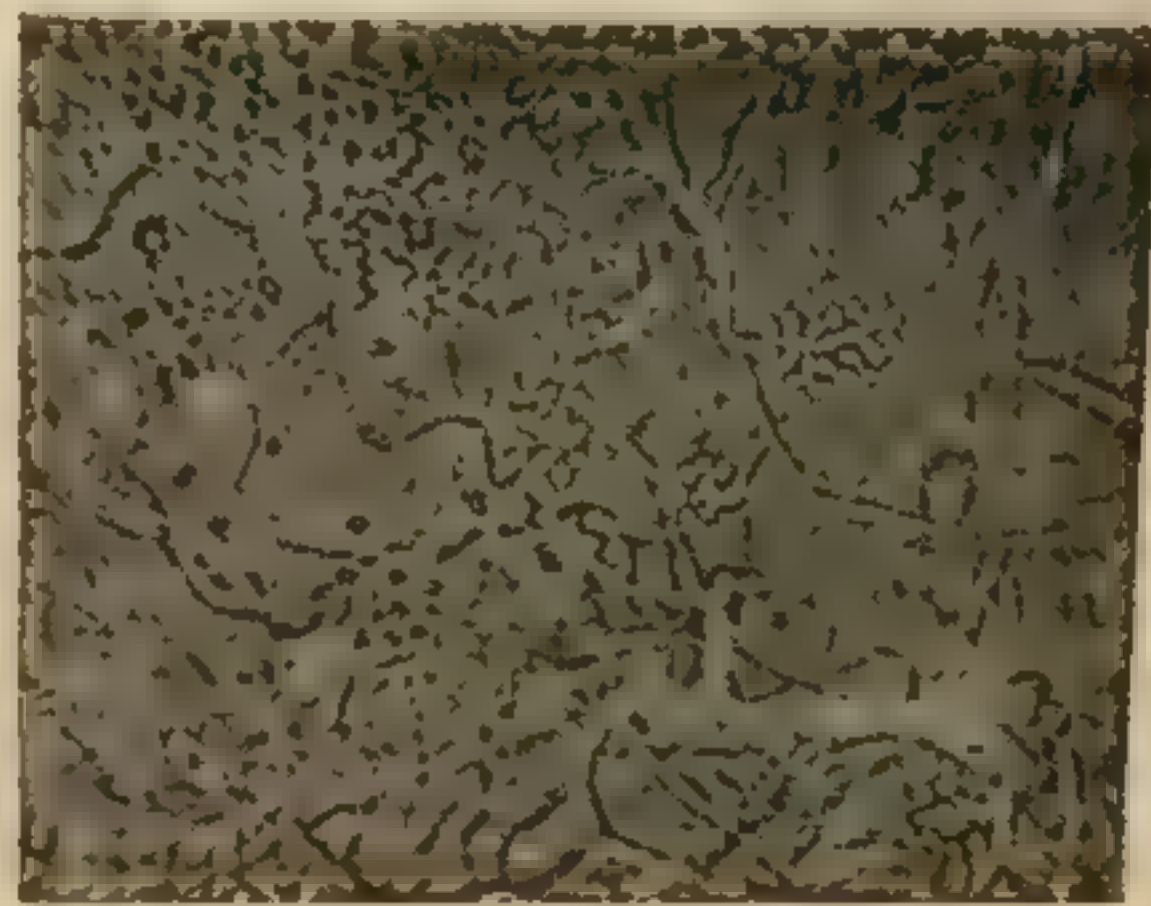


Рис. 193. Микроскопическая картина дрожжевого поражения кожи. Кучки дрожжевых спор и тонкие нити мицелия.

6) **Отрубевидный лишай (*Pityriasis versicolor*)**. Хронически протекающее, весьма поверхностное грибковое заболевание кожи. Возбудитель — *Microsporon (Malassezia) furfur*.

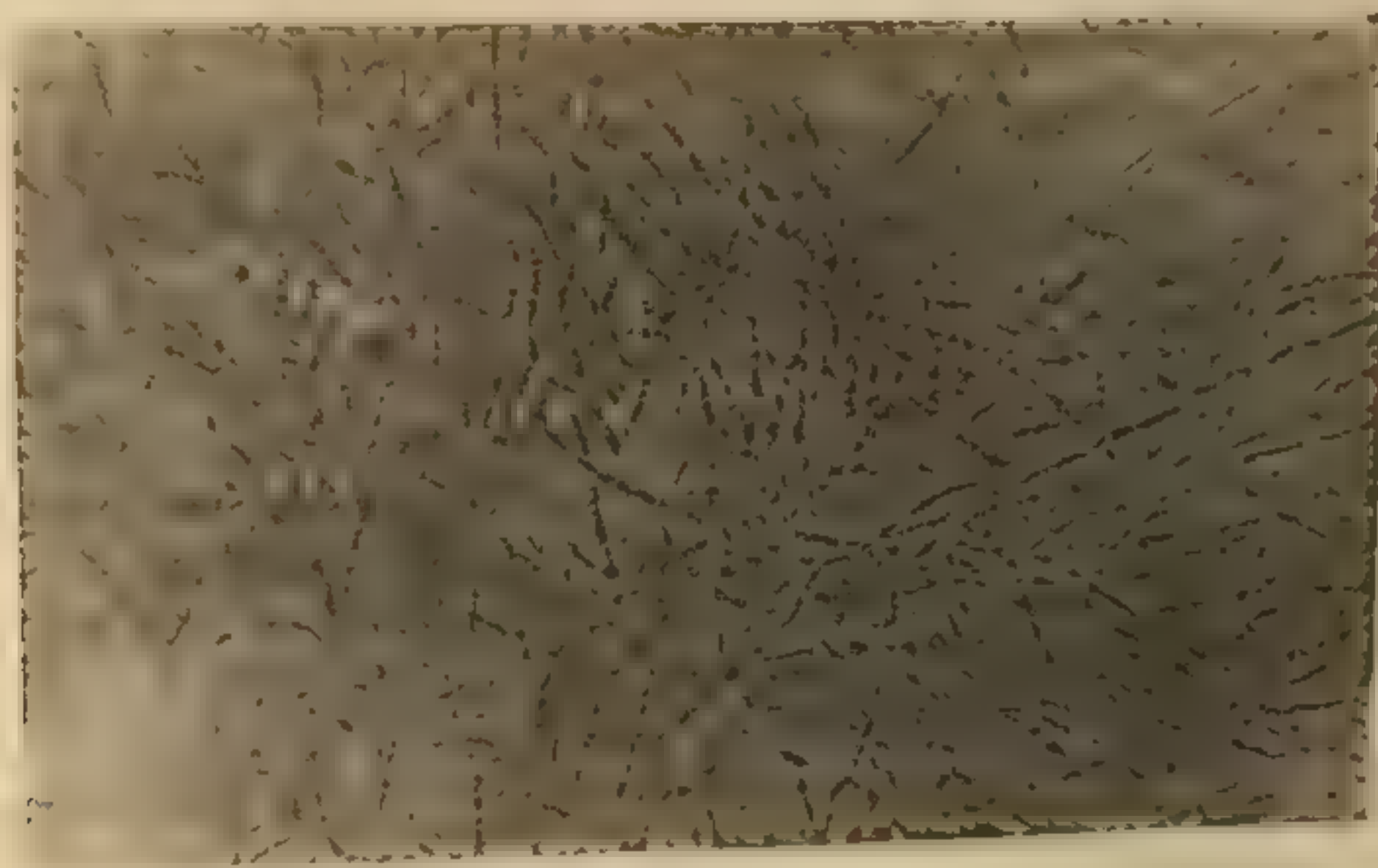


Рис. 194. Микроскопическая картина дрожжевого поражения слизистой оболочки. Сплетение толстых нитей, отдельные почкующиеся дрожжевые клетки.

Клинически заболевание характеризуется наличием на коже груди, спины, шеи, реже на других участках кожного покрова, иногда и на волосистой части головы пятен светлорозового цвета с едва заметным шелушением. В соскобах с пятен, обработанных обычным способом щелочью, обнаруживаются двоякого рода элементы: 1) большое количество крупных круглых двуконтурных спор, несколько напоминающих эритро-

<sup>1</sup> Ариев А. М., Дрожжевые поражения кожи и слизистых оболочек, Медгиз, 1949.



цеты и расположенных в виде более или менее значительных скоплений, и 2) короткие, толстые, резко контурированные нити мицелия, U- или S-образно изогнутые. Иногда в препарате удается видеть преимущественно группы спор и единичные обрывки мицелия. Получение культуры грибка удается с трудом и не имеет практического значения, так как грибок определяется с точностью до вида уже по микроскопической картине (рис. 196).

7) **Эритразма (Erythrasma)**. Хроническое весьма поверхностное грибковое поражение кожи. Возбудитель — *Microsporon minutissimum*.



Рис. 195. Культуры дрожжеподобных грибов из рода *Monilia* (*Candida*) на среде Сабуро.

Клинически заболевание характеризуется наличием резко контурированных пятен светлорозового или кирпично-красного цвета, едва заметно шелушащихся при поскабливании. Излюбленная локализация — складки кожи (паховые, подмышечные и под грудными железами у женщин); описано поражение кожи межпальцевых промежутков на ногах. Микроскопически в соскобах с очагов видны: 1) очень многочисленные тонкие, нежные, извитые нити мицелия, распадающиеся на кокковидные элементы или состоящие из как бы расположенных в ряд бацилл (наподобие стрептобацилл); многие нити имеют утолщения на своем протяжении или на концах; 2) очень мелкие круглые споры, лежащие среди нитей мицелия то одиночно, то в виде кучек. Величина всех этих грибковых элементов настолько мала, что в отличие от *Microsporon furfur* они могут быть обнаружены только при пользовании иммерсионной системой в окрашенных препаратах. Чешуйки на предметном стекле заливаются ледяной уксусной кислотой, после чего препарат подогревается до испарения кислоты. Затем на препарат наливают 2% водный раствор метиленовой синьки на 3—5 минут, после чего краска осторожно смывается водой и препарат высушивается. Нити грибка окрашиваются в синий цвет и хорошо видны на фоне эпителиальных клеток (рис. 197).

Возможность культивирования грибка на питательных средах до сих пор оспаривается большинством микологов.



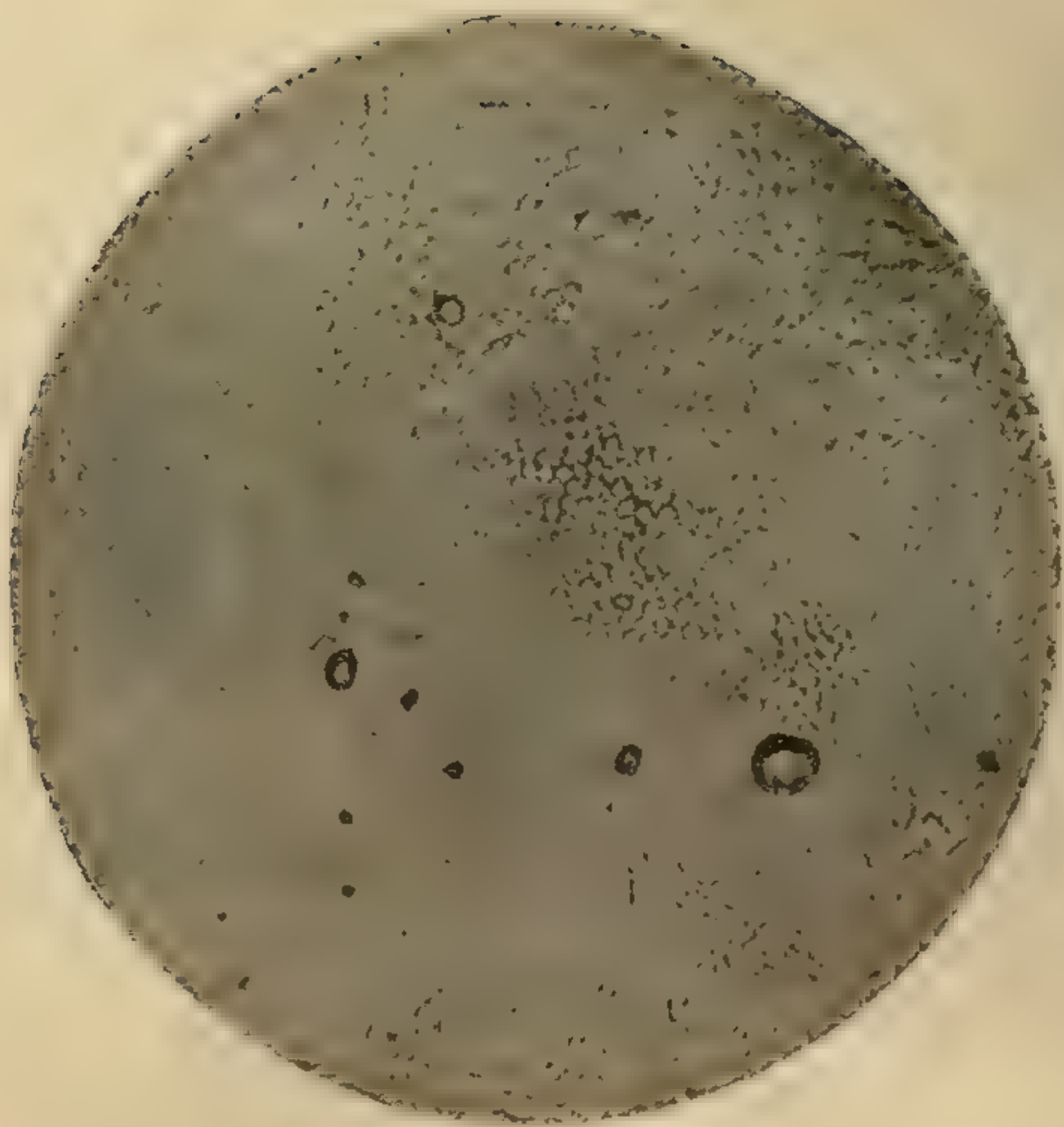


Рис. 196. Грибок *Microsporon furfur* в чешуйке.

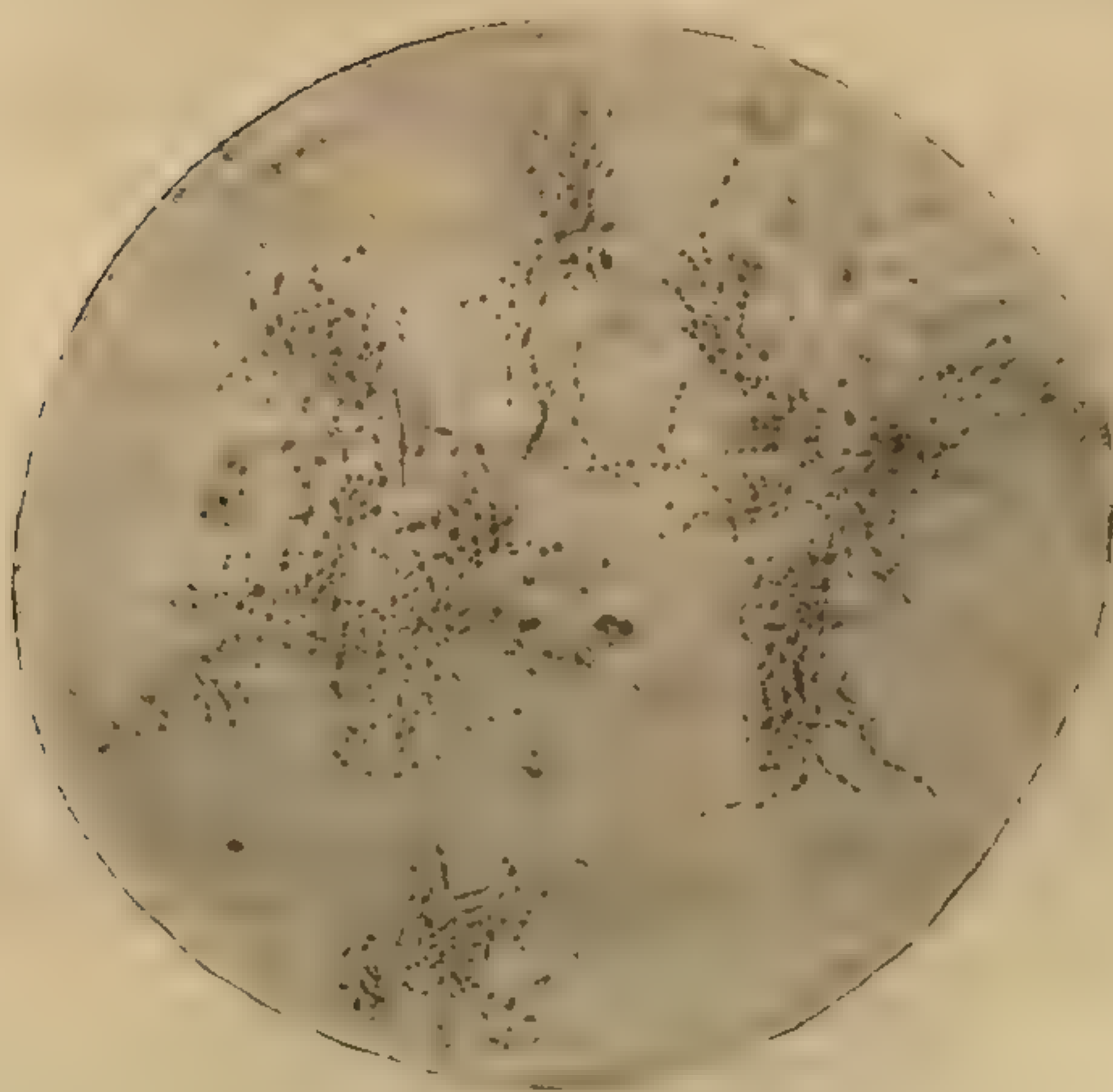


Рис. 197. Грибок *Microsporon minutissimum* в чешуйке.



## ГЛУБОКИЕ МИКОЗЫ И ИХ ВОЗБУДИТЕЛИ

1) Бластомикоз (*Blastomycosis profunda*). Различают две формы глубокого бластомикоза: 1) европейскую — типа Буссе-Бушке и 2) американскую — типа Джилькрайста.

Возбудителем европейского бластомикоза является дрожжевой грибок *Cryptococcus* (синонимы: *Torula histolytica*, *Saccharomyces*, *Debaryomyces*), который может вызывать поражения кожи, легких, мозговых оболочек и др. Криптококки сапрофитируют на различных растениях, могут вызывать заболевания у животных.

На открытых участках кожи (лице, кистях, реже стопах) появляются узелки, центральная часть которых в дальнейшем некротизируется, причем образуются кратерообразные язвы с подрытыми, зазубренными

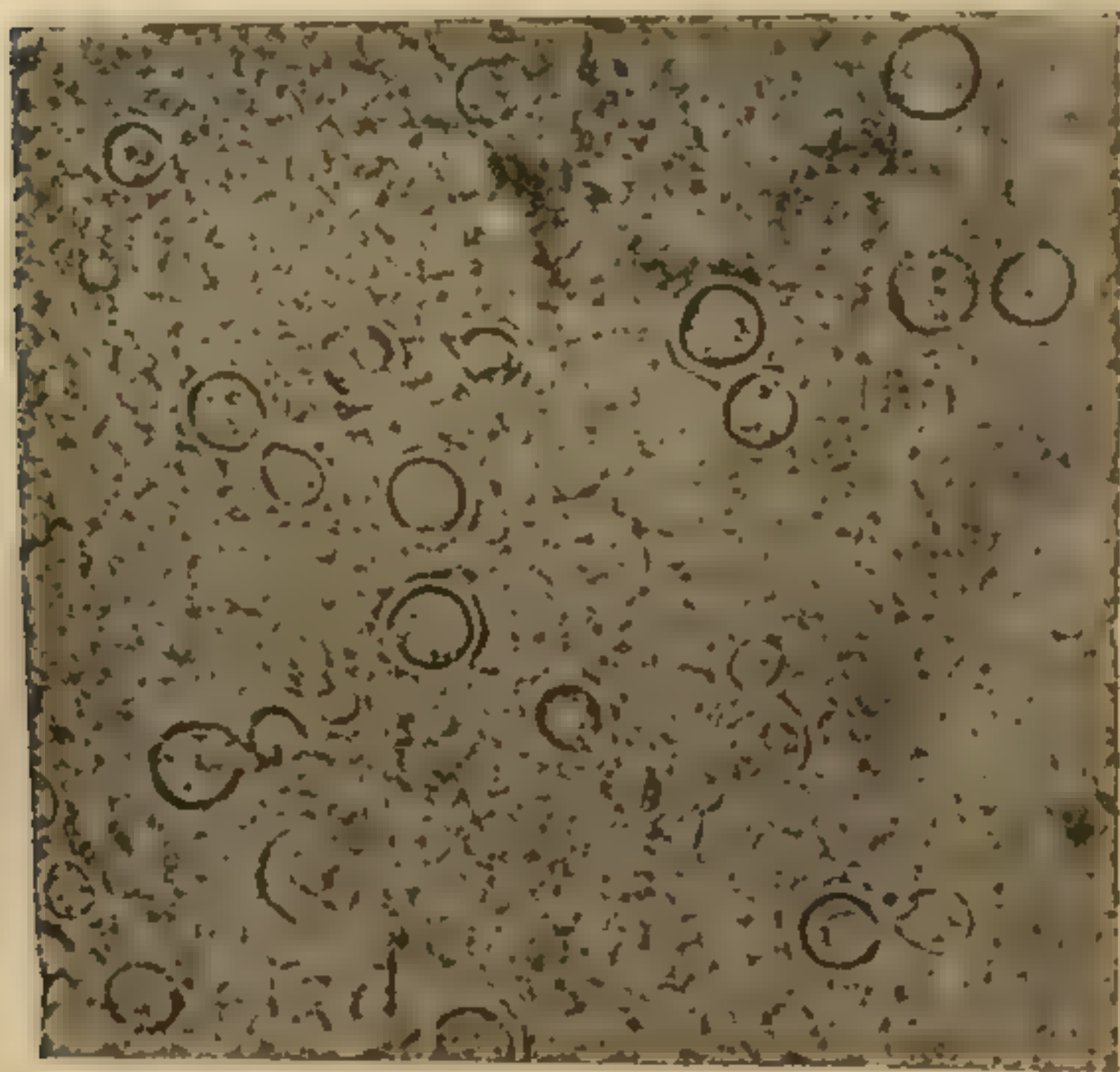


Рис. 198. Бластомикоз кожи. Дрожжевые клетки с толстой двуконтурной оболочкой в мазках из гноя.

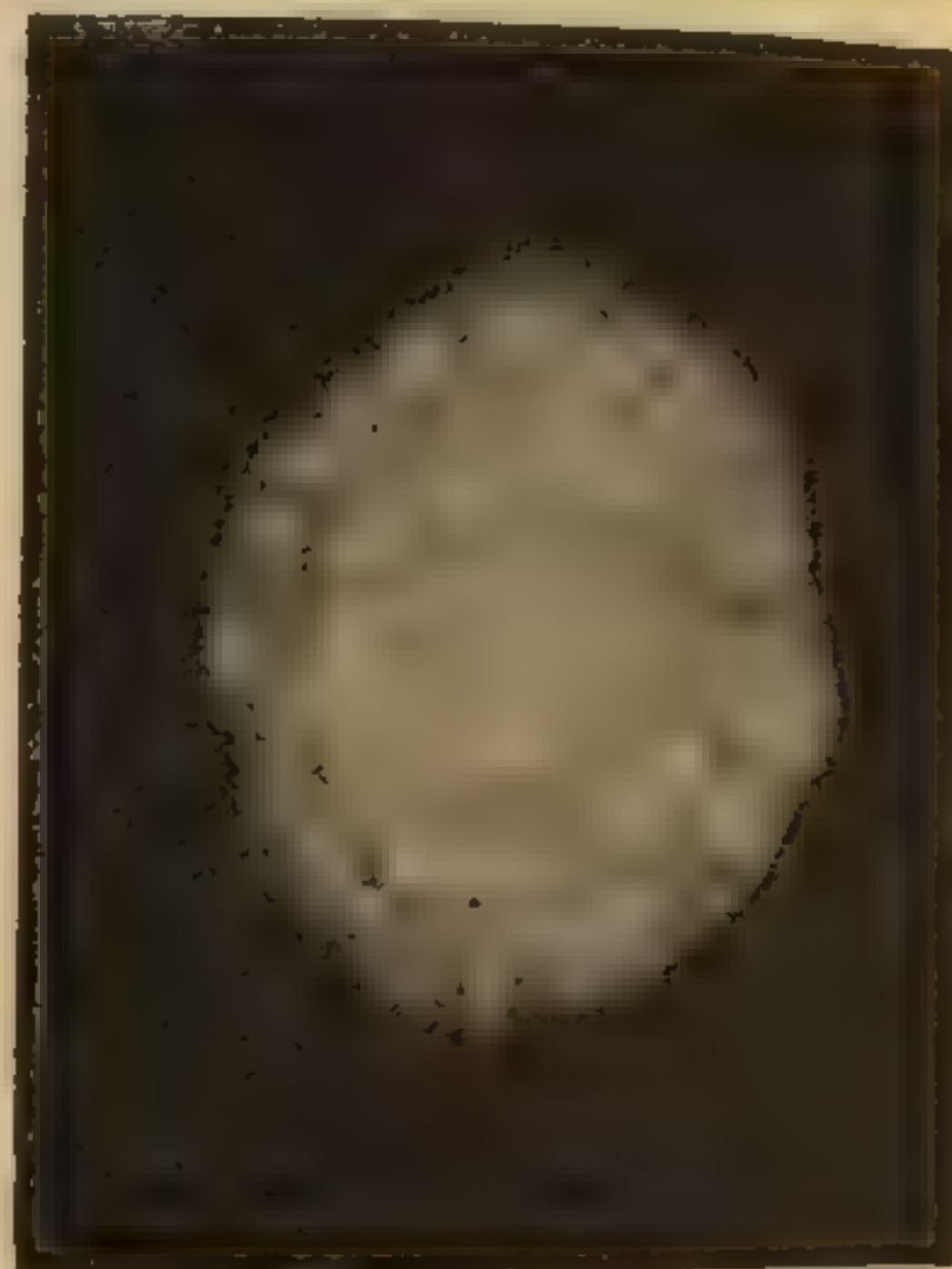


Рис. 199. Колония грибка *Cryptococcus* (*Torula histolytica*) на среде Сабуро.

краями, нередко покрытые корочками. Течение хроническое. Наблюдаются метастазы во внутренние органы со смертельным исходом. Для микроскопического исследования и посева пользуются гноем, добываемым путем пункции из узлов, а также отделяемым из-под краев или более глубоких частей дна язв. Ценный материал для исследования представляет биопсированная ткань.

При поражении центральной нервной системы исследованию подлежит спинномозговая жидкость; при поражении легких исследуется мокрота. Микроскопическое исследование производится в капле глицерина. Мазки окрашиваются по Граму. Спинномозговая жидкость и мокрота центрифугируются.

В мазках из гноя и растертой в физиологическом растворе биопсированной ткани можно видеть свободно лежащие (реже в лейкоцитах и эпителиальных клетках) дрожжевые клетки, круглые или овальные, с толстой двуконтурной оболочкой, окруженные широкой прозрачной капсулой, иногда характерно почкующиеся (рис. 198).

Если исследуемый материал содержит мало гноя, то рекомендуется рассматривать его в капле китайской туши, где особенно хорошо видны капсулы дрожжевых клеток.



На среде Сабуро и пивном сусло-агаре, а также на кровяном агаре (при 37°, вырастают колонии грибка белые, влажные, блестящие с возвышенным складчатым центром и мелкими радиальными бороздками; позднее колонии приобретают кремовую окраску и слизистый характер (рис. 199). Микроскопически культура состоит только из круглых и овальных, большей частью почкующихся клеток.

Возбудителем американского бластомикоза, который встречается в виде спорадических случаев и в СССР, является грибок *Blastomyces dermatitidis*. Грибок этот обуславливает поражения кожи, подкожной клетчатки и внутренних органов, главным образом легких и костей. В большинстве случаев наблюдаются поражения лица, кистей, предплечий, стоп, реже голеней. На высоте развития процесс представляется в виде крупных, возвышающихся над уровнем кожи изъязвленных бляшек с папилломатозными разрастаниями и густым гнойным отделяемым кремового цвета. Язвы окружены валиком синюшно-красного цвета, на котором видны мелкие абсцессы, и обладают периферическим ростом. Поражение легких может быть смешано с туберкулезом.

При кожных поражениях материалом для исследования служит гной из абсцессов, расположенных на периферическом валике язвы, добываемый шприцем, а также гной, аспирированный из подкожных абсцессов. Можно воспользоваться для этой цели также и соскобом с кусочков ткани или гноем из-под краев язв.

При поражениях внутренних органов исследованию подвергается мокрота, спинномозговая жидкость, моча. Капля исследуемого материала помещается на чистое предметное стекло и покрывается покровным стеклом. При исследовании обрывков ткани или густого гноя следует тщательно размельчить материал, поместить его в каплю едкой щелочи и, накрыв покровным стеклом, осторожно подогреть на пламени. Все эти препараты необходимо микроскопировать с опущенным конденсором (при ослабленном освещении).

Возбудитель имеет вид круглых, частью почкующихся клеток с довольно толстыми двуконтурными стенками. На среде Сабуро вырастают сероватые гладкие колонии и, наряду с ними, белые пушистые с центральным пупкообразным возвышением (рис. 200). Микроскопически эти культуры состоят из большого количества длинных ветвящихся нитей мицелия с круглыми или грушевидными конидиями по бокам или на стеригмах.

Для точной диагностики бластомикоза считается обязательной инокуляция патологического материала (гноя, кусочков ткани) экспериментальным животным (мышам). Вводится в ткань яйца или в брюшную полость взвесь культуры грибка в физиологическом растворе. В течение



Рис. 200. Колония грибка *Blastomyces dermatitidis* на среде Сабуро.



3 недели у мышей развивается типичное заболевание с поражением печени, селезенки, легких и лимфатических узлов. Микроскопически в этих очагах можно обнаружить типичные почкующиеся дрожжевые клетки.

2) Споротрихоз (*Sporotrichosis*). Хронически протекающее глубокое грибковое поражение, встречается во всех странах света. Возбудители споротрихоза — различные виды грибка *Sporotrichum*.

Споротрихоз чаще наблюдается у людей сельского труда. Излюбленная локализация — кисти, предплечья. Болезнь характеризуется появлением в толще кожи и подкожной клетчатке узлов, имеющих склонность к расплавлению и образованию язв. Различают: 1) диссеминированную (гематогенную) форму споротрихоза, при которой появляется множество узлов на разных участках кожного покрова, вскрывающихся с образованием язв; 2) локализованную форму, при которой на месте внедрения

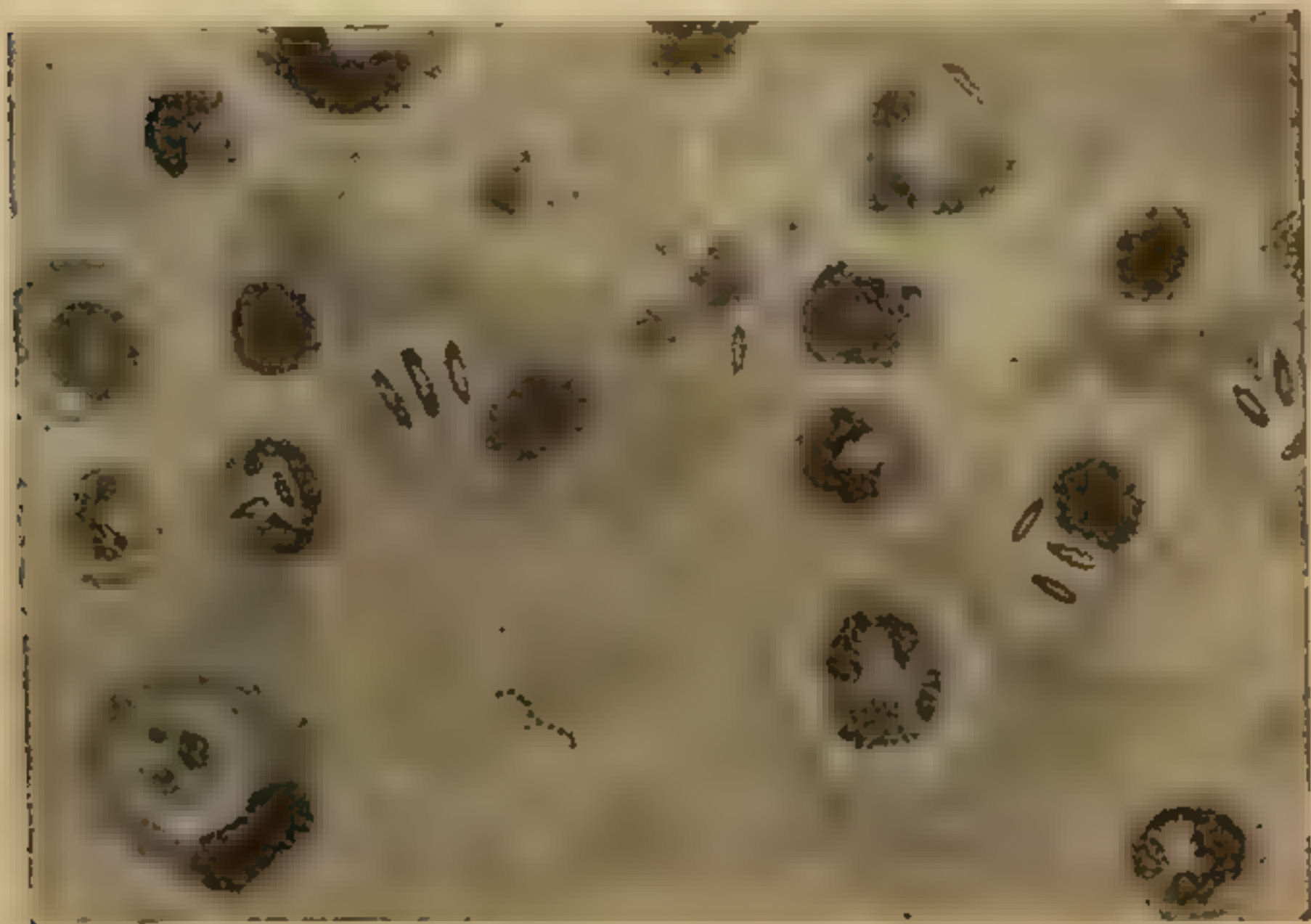


Рис. 201. Микроскопическая картина грибка *Sporotrichum* в мазках из гноя.



Рис. 202. Культура грибка *Sporotrichum* на среде Сабуро.

грибка развивается узел, а позднее язва; в дальнейшем такого же характера узлы возникают по ходу ближайших к очагу лимфатических сосудов.

Объектом микроскопического исследования (а также культурального) является гной, который получается путем пункции узлов шприцем со стерильной толстой иглой, а также пипеткой или платиновой петлей из-под нависающих краев язвы. В мазках, окрашенных по Граму или Романовскому-Гимза, можно видеть (далеко не всегда) обычно немногочисленные элементы грибка в виде округлых челночков — спор с заостренными концами, окруженных бесцветной зоной (капсулой) и лежащих вне и внутри лейкоцитов. Кроме того, встречаются тонкие нити мицелия (рис. 201). Большое значение для диагностики имеет посев гноя на среду Сабуро; при этом рекомендуется наносить возможно большее количество гноя на поверхность агара, лучше на границе среды со стенкой пробирки. Такая техника посева ведет к развитию культуры на внутренней поверхности стекла и дает возможность наблюдать рост грибка под микроскопом непосредственно в пробирке. Лучшие результаты можно получить, пользуясь кусочками биопсированной ткани; при этом мазки делаются путем проведения кусочка биопсированной ткани по поверхности предметного стекла.

Культуры грибка растут довольно быстро при комнатной температуре. Сначала колонии имеют белый цвет; по мере увеличения роста колонии поверхность ее становится влажной, морщинистой, кожистой. Окраска колоний разнообразная — от беловато-желтоватой, восковидной



(кремовой) до черной (рис. 202). Микроскопически культура состоит из тонких ветвящихся нитей мицелия, септированных, иногда нежно зернистых. Конидии большей частью грушевидные, окрашенные; они расположены или непосредственно вдоль мицелия группами, или в виде гроздьев на концах тонких боковых веточек-конидиеносцев.

3) **Хромомикоз (Chromomycosis)**. Редкое, хроническое, глубокое поражение кожи, наблюдается преимущественно в тропических странах. В СССР опубликовано около 100 случаев. Возбудителями хромомикоза являются грибки из родов *Normodendron* и *Phialophora*. Начало заболевания в виде узлов или язвочек. В развитом состоянии поражение имеет вид опухолевидных бородавчатых разрастаний, покрытых корками. Излюбленная локализация — стопы и голени, реже кисти, предплечья.

Микроскопическому исследованию подвергается соскоб с промежутков между разрастаниями, а также гной из свежих очагов поражения. Соскоб производится острой ложечкой, обрабатывается едкой щелочью и рассматривается в капле глицерина. При этом обнаруживаются характерные овальные или круглые клетки бурого или желтоватого цвета с толстой оболочкой, иногда разделенные перегородкой, а также редкие нити септированного мицелия (рис. 203).

При посеве на среду Сабуро легко получается рост круглых, пушистых или ворсинчатых комочков темносерого цвета с зеленоватым оттенком (рис. 204). Микроскопически культура состоит из нитей мицелия с конидиеносцами, несущими на верхушке коричневатые кистеподобные споры. Прививка культуры крысам вызывает у них характерное заболевание.

4) **Актиномикоз (Actinomycosis)**. Хроническое заболевание, вызываемое различными видами так называемого лучистого грибка *Actinomyces*, из которых одни являются аэробами, другие — анаэробами. Клинические проявления актиномикоза разнообразны. Различают: 1) актиномикоз кожи — шейно-лицевой, 2) актиномикоз легких (торакальный) и 3) абдоминальный. Наиболее часто актиномикоз с поражением органов брюшной полости. Наиболее часто встречается шейно-лицевая форма актиномикоза, характеризующаяся наличием весьма плотных узлов в подкожной клетчатке, синюшно-красной окраски, наклонных к размягчению и образованию свищей, отделяющих желтоватый гной. Если собрать этот гной в чашку Петри или размазать его тонким слоем на предметном стекле, то иногда удастся различить (на темном фоне) очень мелкие желтоватые или серовато-белые с зеленоватым оттенком зернышки. Зерна эти представляют собой так называемые друзы лучистого грибка. Если гной отделяется свободно, то можно получить его путем надавливания на область свища или путем соскоба со стенок свища.

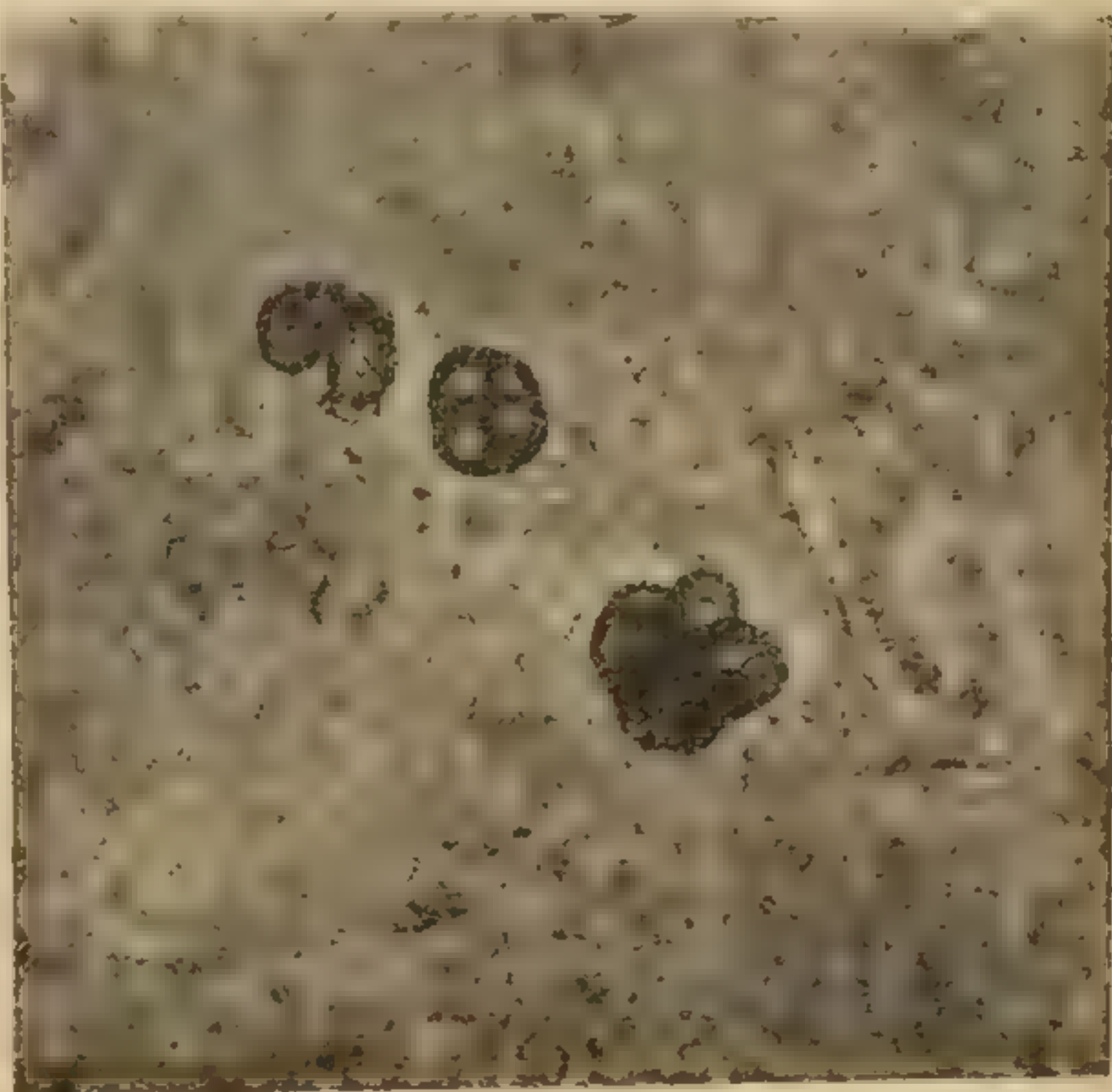


Рис. 203. Споры и мицелий грибка *Normodendron* в мазке из гноя.



При микроскопическом исследовании зерен-друз, осторожно раздавленных между предметным и покровным стеклом (лучше в капле глицерина или едкой щелочи), можно видеть одну или несколько характерных округлой формы колоний лучистого грибка, центр которых бесструктурен, а периферия имеет радиальное строение. При большом увеличении центральная часть этого образования состоит из густого, компактного сплетения тонких ветвящихся нитей мицелия с пигментированными зернами. По периферии этот клубок мицелия окружен зоной из булавовидных образований с сильно преломляющими свет колбообразными вздутиями на концах, причем эти образования расположены частоколом и сообщают дру-



Рис. 204. Культура грибка *Hormodendron* на среде Сабуро.

же лучистое строение (откуда и название «лучистый грибок» — рис. 205). Во всех случаях следует сделать окрашенный по Граму препарат из раз-

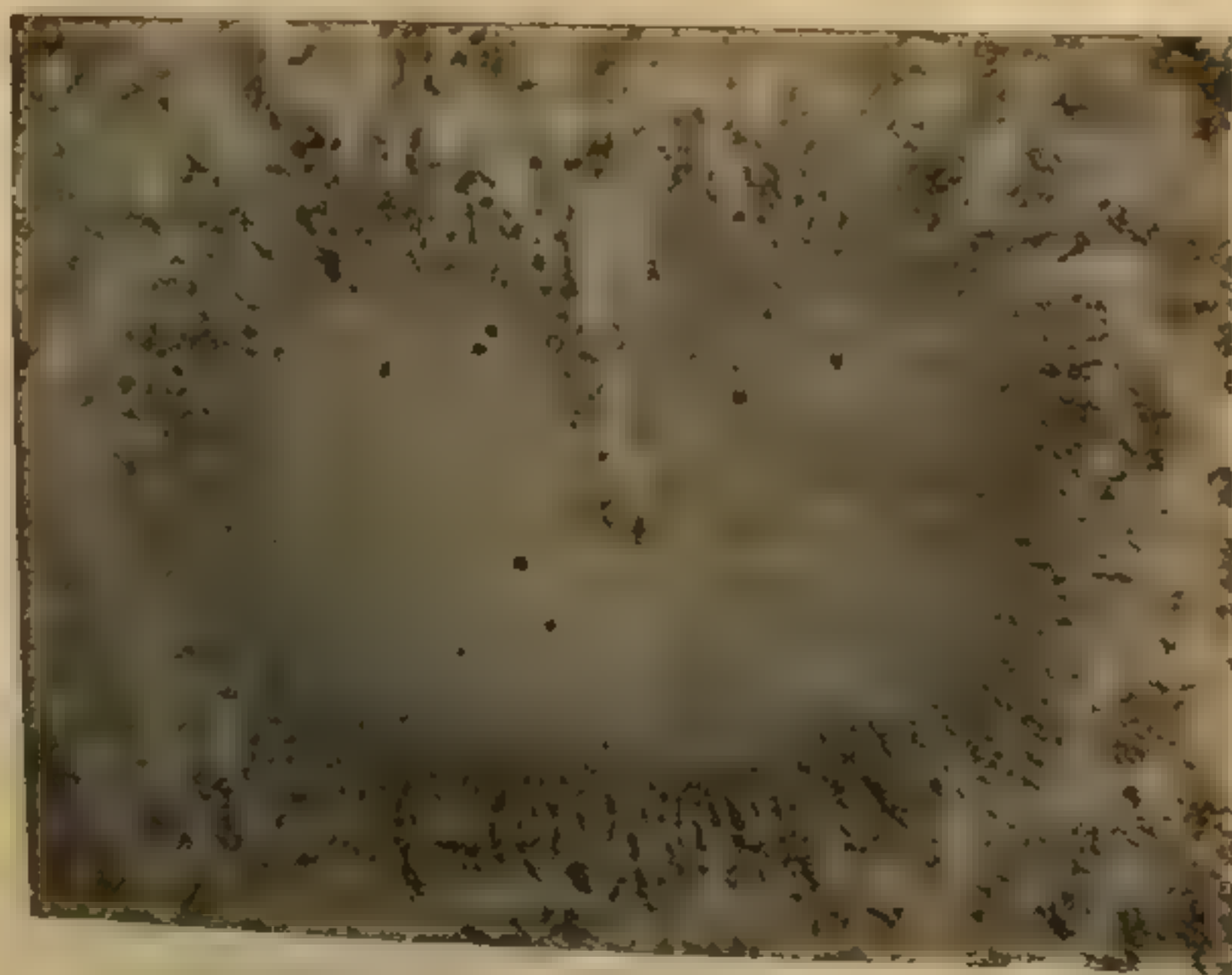


Рис. 205. Друза грибка *Actinomyces*.

мельченных и размазанных на предметном стекле друз; при этом нити мицелия окрашиваются грамположительно, т. е. в темносиний цвет, а колбы — в розовый цвет. В некоторых случаях удается видеть только пучки из обрывков нитей мицелия и толстых палочковидных образований. При окраске по Циль-Нильсену колбы приобретают красивый красный цвет. В случае отсутствия характерных зерен-друз производят окраску мазков гноя на предметном стекле, ибо друзы могут быть в состоянии распада. В этих случаях также реко-



мандуется обработка гноя щелочью с последующим центрифугированием (метод обогащения).

Актиномикоз легких может симулировать легочный туберкулез. Мокрота при актиномикозе легких имеет слизисто-гнойный характер. Иногда уже макроскопически удается обнаружить типичные зерна-друзы грибка, для чего необходимо просмотреть значительное количество мокроты, размазывая ее на стекле тонким слоем и разрушая гнойные комочки. Обнаруженные зерна или мельчайшие зернышки исследуют сначала в неокрашенном виде, а затем окрашивают по Граму.

Культивирование грибка связано со значительными трудностями. Наиболее подходящими питательными средами являются щелочной глицериновый агар, картофель, сывороточные, мясные и асцитические среды, а также агар Сабуро. Для получения культуры грибка из мокроты последнюю смешивают в стерильной баночке со стеклянными бусами с двойным количеством глицерина и после повторного встряхивания баночку помещают в термостат. Через сутки указанная смесь разливается в несколько чашек Петри с мясо-пептонным агаром; через 1—2 минуты смесь отсасывается пипеткой с резиновым баллоном (стерильной!) или сливается, а края чашки обжигаются. Закрыв чашки, их ставят дном вверх в термостат при температуре 37° на 2 суток.

Из патогенных актиномицетов наибольшее значение имеют: *Actinomyces bovis*, образующий при посеве на бульон мелкие пушистые колонии на дне пробирки, а при посеве уколом на твердую среду дающий рост в толще питательной среды. Микроскопически колонии этого грибка состоят из массы тонких ветвящихся нитей или фрагментов мицелия, окрашивающихся положительно по Граму; при этом обрывки мицелия имеют вид дифтероидных палочек.

*Actinomyces asteroides* на среде Сабуро образует при комнатной температуре морщинистые колонии разнообразной окраски — от светложелтой до оранжевой. Микроскопически культура состоит из нежных ветвящихся кислотоустойчивых нитей мицелия.

*Actinomyces madurae* (аэробный вид) образует гладкие, восковидные, иногда морщинистые желтоватого цвета колонии, приобретающие позднее красноватую окраску. Микроскопически этот вид ничем не отличается от других, но нити его не обладают кислотоустойчивостью.

## ПЛЕСНЕВЫЕ МИКОЗЫ

Плесневые грибки очень широко распространены в природе, и многие из них, например, *Aspergillus* и *Penicillium*, являются обычными загрязнителями в лаборатории. Вместе с тем в настоящее время не подлежит сомнению, что некоторые из плесневых грибов могут быть при известных условиях возбудителями заболеваний. Диагноз плесневого микоза должен ставиться весьма осторожно, на основании сопоставления клинических, микроскопических и культуральных данных. Получение только культуры грибка в этих случаях никоим образом не может служить доказательством плесневого происхождения заболевания.

1) **Аспергиллез легких.** Поражение легких грибами из рода *Aspergillus* у человека наблюдается, повидимому, исключительно редко. Симптомы заболевания очень напоминают туберкулез легких. Различные виды грибка *Aspergillus* часто вырастают при посеве мокроты на среду Сабуро, и поэтому получение культуры этого грибка не может считаться доказательным. Непременным условием диагностики аспергиллеза легких является обнаружение обрывков широких нитей мицелия и круглых темно-



зеленых спор при микроскопическом исследовании мокроты. На среде Сабуро легко вырастают колонии грибка, сначала белые, пушистые, затем быстро приобретающие зеленую окраску. Для микроскопической картины этого грибка в культуре характерно наличие конидиеносцев со вздутиями-головками на концах; поверхность этих головок покрыта стеригмами, несущими длинные цепочки спор. Эти характерные для *Aspergillus* головки имеют зеленую окраску.

2) **Отомикоз.** Отомикозом принято называть хронически протекающее заболевание наружного слухового прохода, характеризующееся краснотой, отеком, наличием чешуек и корочек. Болезнь сопровождается сильным зудом.

При микроскопическом исследовании чешуек и корочек обнаруживают споры и нити мицелия различной длины и толщины, а иногда характерные головки *Aspergillus*.

3) **Плесневые онихомикозы.** За последние годы рядом авторов описаны случаи онихомикозов, обусловленных внедрением плесневых грибов. В большинстве случаев поражались ногти на ногах. Ногтевые пластинки утолщены, ломки, окрашены в желтоватый или зеленоватый цвет. Микроскопически в соскобах с пораженных ногтей обнаруживают споры и толстые нити мицелия. В культуре вырастают чаще всего *Aspergillus fumigatus* или *Aspergillus niger*, *Scopulariopsis brevis*, реже и другие плесневые грибки.

## ГЛАВА ВТОРАЯ

# ПОРАЖЕНИЯ КОЖИ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ БАКТЕРИЯМИ И ПРОСТЕЙШИМИ

## ГНОЙНИЧКОВЫЕ БОЛЕЗНИ КОЖИ — ПИОДЕРМИЯ

Под названием «пиодермия» различают ряд клинических форм поражения кожи, обусловленных внедрением гноеродных микроорганизмов. Сюда относятся такие часто встречающиеся заболевания, как импетиго, фолликулиты, пемфигус новорожденных, абсцессы, фурункулы, карбункулы, гидраденит, сикоз. Отдельными элементами пиодермии являются пузыри, пустулы, корки. Хроническая форма пиодермии часто протекает в виде язвенных процессов. Возбудителями пиодермии оказываются чаще всего различные виды стафилококка и стрептококка. Следует, однако, иметь в виду, что гнойный процесс может быть обусловлен также и другими микроорганизмами, например, синегнойной палочкой, пневмококком, гонококком и др. Перед взятием материала для исследования покрывку пузыря, пустулы или фурункула (желательно еще не вскрывшегося) протирают ваткой, смоченной спиртом; содержимое исследуют непосредственно после инцизии или набирают с помощью пункции стерильным шприцем.

## ДИФТЕРИЯ КОЖИ

Дифтерия кожи, а также дифтерия ран наблюдается чаще всего у носителей дифтерийных палочек, но может возникнуть и в результате заражения от дифтерийных больных. На ране появляется грязно-зеленый или серовато-желтый налет; одновременно кожа в области раны отекает и появляется обильное серозно-кровянистое отделяемое. Дифтерия кожи



может протекать также в виде пустул и изъязвлений. У новорожденных наблюдается дифтерия пуповины, у девочек — дифтерия половых органов. Исследование отделяемого язв и ран на дифтерию (микроскопия и посев) производится обычным способом.

### СИБИРСКАЯ ЯЗВА (ANTHRAX)

Кожная форма сибирской язвы характеризуется наличием геморрагического безболезненного струпа, окруженного венчиком из пузырьков, и сильного отека. Исследованию подвергают тканевой сок (лимфу). Для этой цели необходимо удалить корку (струп) и усилить выделение лимфы маленькой банкой, так как сибиреязвенную палочку можно обнаружить большей частью только в соке из более глубоких слоев. Препараты окрашиваются обычным способом — метиленовой синькой и по Граму. Дальнейший ход исследования см. в отделе десятом.

### САП (MALLEUS)

При этом заболевании септического характера на коже и слизистых оболочках образуются узелковые и пустулезные высыпания, которые в дальнейшем распадаются и превращаются в язвы. Палочки сапа редко удается обнаружить в мазках из пустул и язв.

### ПРОКАЗА (LEPRA)

Проказа — хроническое заболевание, вызываемое палочкой Ганзена. Кожная форма проказы характеризуется наличием узлов разных размеров и окраски преимущественно на лице и конечностях, а также пятен желтовато-красного или лилового цвета. Характерным признаком является потеря болевой чувствительности в области пятен.

Палочка Ганзена может быть обнаружена во всех элементах кожной сыпи, но легче всего в узлах при бугорковой форме проказы. Исследованию подвергают тканевой сок, полученный путем пункции из лепрозных узлов и бугорков. При наличии язвы делают соскоб с ее краев. Можно обнаружить лепрозные палочки и в носовой слизи, которую добывают путем раздражения (трения) слизистой носа ватным тампоном. Препараты окрашиваются по Циль-Нильсену, причем палочки Ганзена приобретают малиновокрасную окраску.

### ЛЕЙШМАНИОЗ КОЖИ (LEISHMANIOSIS CUTIS)

Кожная форма лейшманиоза, известная под названием пендинской язвы, чаще всего встречается на открытых участках тела. В разные периоды болезни на коже наблюдаются папулы, бугорки и язвы. Легче всего обнаружить лейшманию в нераспавшемся бугорке. Папулы и бугорки пунктируют; при наличии язвы материал для исследования рекомендуется брать лучше всего с краев язвы путем соскоба скальпелем или платиновой лопаточкой. Хороший материал можно получить путем отторжения грануляций хирургическим пинцетом. При взятии материала для исследования необходимо по возможности избегать кровотечения. Мазки из полученного таким образом материала окрашиваются по Романовскому-Гимза. Ход дальнейшего исследования см. отдел первый, глава вторая.



### ГЛАВА ТРЕТЬЯ

## ПОРАЖЕНИЯ КОЖИ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ПАРАЗИТАМИ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

### ЧЕСОТКА (SCABIES)

Чесотка — заразное кожное заболевание, вызываемое клещом *Ascaris, s. Sarcoptes scabiei*. Болезнь характеризуется высыпанием, состоящим из мелких пузырьков, узелков, волдырей и расчесов. Излюбленная локализация — боковые поверхности пальцев рук и межпальцевые складки, сгибательные поверхности конечностей, передняя стенка подкрыльцовых впадин; у женщин — кожа грудных желез; у детей — область половых органов, ладони и подошвы. Характерным признаком чесотки являются далее так называемые чесоточные ходы, которые проделывает в роговом слое кожи самка клеща. Эти ходы имеют вид сероватых или черноватых извилистых полосок длиной в несколько миллиметров. Обнаружить клеща удастся чаще всего в ходах и пузырьках, локализующихся на боковых поверхностях пальцев, в области лучезапястного сустава, на половом члене, в области сосков. Для этой цели пользуются перышком, препаровальной иглой Дженнера или тонким скальпелем. Острие инструмента вкалывают в основание пузырька со стороны слепого конца чесоточного хода и несколько продвигают по дну пузырька; затем приподнимают острие инструмента и выводят его обратно. Таким образом нередко удастся извлечь клеща, которого можно видеть даже невооруженным глазом в виде еле заметного зернышка на острие инструмента. Можно извлечь клеща также и путем срезания покрывки пузырька у самого его основания при помощи лезвия безопасной бритвы. Добытый тем или иным способом материал переносят на предметное стекло и рассматривают в капле физиологического раствора или в едкой щелочи. Самка клеща имеет тело овальной формы с четырьмя парами членистых ног (рис. 206). Кроме того, иногда удастся видеть яйца клеща в различных стадиях развития.





Рис. 206. Клещ чесоточный.



РВОТНЫЕ МАССЫ

*[The page contains several paragraphs of handwritten text in cursive script, which is mostly illegible due to extreme blurring. The handwriting appears to be from the late 19th or early 20th century.]*



## ОТДЕЛ СЕДЬМОЙ

# ИССЛЕДОВАНИЕ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Исследованию могут подлежать рвотные массы или же содержимое желудка, полученное посредством тонкого или толстого зонда; во втором случае различают в свою очередь содержимое желудка, полученное натошак или же выкачанное через некоторый промежуток времени после так называемого пробного завтрака различного состава.

### ГЛАВА ПЕРВАЯ

## РВОТНЫЕ МАССЫ

Какие-либо выводы на основании изучения выделившегося с рвотными движениями желудочного содержимого можно делать только в том случае, если у данного больного рвота наблюдается как хроническое, часто повторяющееся явление.

1) **Количество.** При исследовании рвотных масс измеряют прежде всего количество их, так как оно уже само по себе может дать некоторые диагностические указания. Так, например, если количество их очень велико (более 0,5 л) или же превышает объем введенных в течение последних часов пищи и питья, то можно диагностировать патологическое расширение желудка и задержку пищи.

2) **Состав.** Более ценные сведения можно получить при детальном изучении состава рвотных масс и сопоставлении его с содержимым последнего приема пищи; при этом необходимо знать, через сколько времени после еды произошла рвота. Если в желудочном содержимом, выброшенном рвотными движениями спустя более 2 часов после чая с хлебом или более 7 часов после обычного обеда или ужина, еще имеются остатки пищи, то налицо задержанное опорожнение желудка. Еще больше основания говорить о задержке пищи в желудке, если оказывается, что рвотные массы содержат еще и остатки того, что больной ел во время предыдущего приема пищи, или, например, если в утренней рвоте натошак имеются остатки ужина. Если с рвотой выделяется главным образом жидкость кислой реакции, то имеется повышенная секреция желудка. Алкоголики часто выделяют натошак посредством рвотных движений небольшое количество слизистого, щелочного или кислого желудочного содержимого.

3) **Цвет.** Цвет рвотных масс, в особенности если они выделяются натошак утром, зависит от того, имеется ли обратное забрасывание содержимого двенадцатиперстной кишки. Присутствие желчи и дуоденального сока само по себе не дает сколько-нибудь ценных диагностических сведений; иногда оно указывает на силу рвотных движений или на неполное закрытие привратника. Цвет дневной рвоты и весь ее внешний вид.



ний вид обусловлены главным образом составом съеденной пищи и длительностью пребывания съеденного в желудке. Чем короче этот промежуток времени, тем менее изменена пища. Темнокоричневая или темнозеленая, почти черная окраска по большей части свидетельствует о примеси старых пищевых масс. Особенно резко меняется цвет рвотных масс в зависимости от примеси крови. При свежем желудочном кровотечении желудочное содержимое окрашено в красный цвет, который под влиянием кислой реакции среды постепенно переходит в коричневый, при более давнем — в черно-коричневый. При раке желудка кровь выделяется небольшими количествами, но постоянно: при подобном кровотечении желудочное содержимое имеет вид коричнево-черной кофейной гущи; правда, то же может наблюдаться иногда и при небольших кровоточащих язвах. Кровавая рвота гораздо чаще служит симптомом язвы, чем рака; иногда она бывает при уремии, а также при отравлениях, в особенности связанных с ожогом стенки желудка. Небольшие (скрытые) кровотечения открываются под микроскопом или же химическими реакциями (см. «Каловые массы»).

4) **Характер.** По характеру пищевых остатков можно судить о переваривающей функции желудка. Если, например, через несколько часов после того, как больной ел мясную пищу, в рвотных массах можно найти кусочки мяса, то это свидетельствует о недостаточности ферментативной деятельности желудка. Хлеб спустя 2—3 часа при нормальном желудочном пищеварении превращается в почти однородную мелкую массу. Реакция рвотных масс по большей части кислая, но эта кислотность нередко обуславливается не присутствием соляной кислоты желудочного сока, а молочнокислым брожением. В последнем случае запах рвотных масс не кислый, а кисловато-прогорклый или спиртовой. При уремической рвоте нередко выделяются щелочные массы, издающие аммиачный запах.

## ГЛАВА ВТОРАЯ

### ЖЕЛУДОЧНОЕ СОДЕРЖИМОЕ, ПОЛУЧЕННОЕ ПОСРЕДСТВОМ ЗОНДА

#### ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ К ИЗВЛЕЧЕНИЮ ЖЕЛУДОЧНОГО СОДЕРЖИМОГО

Содержимое желудка можно извлечь натошак или же после пробного завтрака. Извлечение содержимого желудка натошак имеет большое клиническое значение. Это исследование позволяет судить о секреторной и моторной функции желудка, что в клинике желудочных заболеваний иногда более важно, чем определение величины кислотности желудочного сока после пробного завтрака. При исследовании натошак и после пробного завтрака можно пользоваться двумя видами желудочных зондов: толстым и тонким.

Так называемый толстый зонд представляет собой толстостенную резиновую трубку, не слишком мягкую и гибкую; толщина его обычно 10—12 мм, просвет — не менее 8 мм; более толстые зонды нередко причиняют больному неприятные ощущения, а более тонкие трудно вводить вследствие их слишком большой мягкости; кроме того, просвет их легко закупоривается плохо прожеванными комками хлеба.



...и...  
...этот...  
...или...  
...привес...  
...масс...  
...кровоте...  
...влиянии...  
...при бол...  
...желудоч...  
...правда, то...  
...язвах...  
...иногда...  
...связан...  
...откры...  
...«Каловые

удить о пере-  
только часов  
можно найти  
ментативной  
ом желудоч-  
массу. Реак-  
сть нередко  
чного сока,  
отных масс  
ремиической  
ный запах.

DE

пробного  
большое  
реторной  
олеваний  
удочного  
ле проб-  
зондов:

стенную  
обычно  
ко при-  
водить  
легко



торного процесса, продолжающегося в течение нескольких часов. Тонкий же зонд при извлечении содержимого из желудка каждые 15 минут (фракционно) в течение длительного времени дает возможность судить о динамике функции желез на ряде этапов. Однако следует отметить, что предназначенные для извлечения желудочного содержимого тонким зондом пробные жидкие завтраки не все физиологичны и, что самое главное, при этих завтраках выпадает, во-первых, психический фактор, играющий столь важную роль в секреторной функции желудка, и во-вторых, отсутствует факт жевания и значение объема пищевых комков, что, по данным школы Павлова, обуславливает нормальное желудочное пищеварение. Проф. Н. С. Смирнов предложил сочетать хлебный завтрак с выкачиванием тонким зондом при условии заворачивания его оливы марлей. В таком виде олива пропускает лишь жидкость, оставляя



Рис. 207. Мочель оливы д-ра Соловья.

в стороне плотные части завтрака. Этот метод в основном оправдал себя и представил автору ряд ценных данных; но он имеет, однако, тот недостаток, что если после завтрака Боас-Эвальда с извлечением последнего толстым зондом, правда, одномоментно, мы получаем представление и о моторной функции желудка, и о степени химификации хлебных частиц, то при методике Смирнова эта сторона исследования желудка отпадает.

Э. Г. Соловей предложил оливу особой конструкции, позволяющую сочетать фракционное исследование желудка после хлебного завтрака с извлечением последнего, причем по наличию остатков хлеба, степени его измельчения в каждой данной порции можно судить об одновременной секреторной и моторной функции желудка.

Эта олива продольной формы, имеет длину 3 см; шейка, на которую надевается резиновая трубка, длиной 1 см, обнаженная часть — 2 см. Поперечник оливы 0,6 см; последняя имеет 5 отверстий по бокам и одно на основании по 0,3 см в диаметре. Вес оливы — 4,5 г (рис. 207). Нормально к концу второго часа хлебный завтрак уходит из желудка, и в соответствующих пробирках содержится лишь чистый секрет, отсасываемый в обильном количестве. При этой методике весь пищеварительный процесс представлен в полном объеме от начала до конца. В первой пробирке через 15 минут после приема завтрака хлебные частицы мало измельчены, иногда и вовсе не отсасываются. От одной порции к другой степень химификации возрастает, и химически можно проследить все стадии превращения крахмала.

2) **Противопоказания к введению зонда:** недавнее желудочное кровотечение, аневризма, тяжелый порок сердца, резко повышенное кровяное давление (опасность апоплексии).

При наличии противопоказаний к извлечению желудочного содержимого приходится ограничиваться наблюдением над изменениями степени кислотности мочи в период желудочного пищеварения. Предварительно устанавливают рН мочи натошак: больному предлагают рано утром опорожнить пузырь от ночной мочи и берут для исследования следующую



порцию; обычно ее кислотность колеблется от pH 5,0 до 6,0. Дают пробный завтрак и собирают мочу каждые 30 минут в течение 2½ часов. При этом реакция мочи сдвигается до pH 7,0—8,0, причем сдвиг сильнее при повышенной, слабее при пониженной кислотности; при ахилии изменение реакции мочи отсутствует вовсе. Способ не вполне надежен. Источники ошибок: при поражении почек моча остается кислой, и, таким образом, симулируется ахилия, которой на самом деле нет. То же наблюдается при ускоренном опорожнении желудка вследствие плохого закрытия привратника и при наличии гастроэнтеростомоза. Проба невыполнима, если первая порция мочи уже имеет щелочную реакцию.

### ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖИМОГО ЖЕЛУДКА, ПОЛУЧЕННОГО НАТОЩАК

Со времени введения в методику исследования функции желудка тонкого зонда убедились в том, что и при совершенно нормальных условиях в желудке натошак имеется несколько кубических сантиметров жидкости, состоящей из желудочного секрета, слизи, проглоченной слюны, а иногда и заброшенного обратно содержимого двенадцатиперстной кишки. Толстым зондом не всегда возможно добыть эту жидкость (иногда это удается в лежачем положении), тогда как олива тонкого зонда в силу тяжести попадает как раз в то место желудка, где скопилась эта жидкость; иногда приходится несколько переместить оливу, выдвигая зонд обратно или предлагая больному проглотить еще несколько сантиметров зонда. Надо помнить, что в желудке механическое раздражение слизистой вызывает секрецию (Чечулин). Это следует особенно учитывать при взятии сока натошак.

1) **Количество.** Количество извлекаемого натошак желудочного содержимого при нормальных условиях не превышает 20—100, в среднем 50 см³; реакция обычно кислая. Если количество много больше, то это может быть обусловлено или усиленной секрецией, или задержкой, или проглатыванием большого количества слюны, или же, наконец, забрасыванием содержимого двенадцатиперстной кишки. Задержку можно распознать или исключить путем изучения осадка под микроскопом; в случае обратного забрасывания жидкость окрашена в желтый цвет и содержит много трипсина. Если этого нет, то имеется повышенная секреция; в этих случаях обычно повышена и степень кислотности. С этим выводом, однако, нужно быть очень осторожным, так как уже вид пищи и даже привычный час завтрака могут вызвать отделение сока. Поэтому диагностическое значение можно придавать во всяком случае только резким отклонениям от нормы в отношении количества (100—200 см³) или степени кислотности (более 70 см³ п/10 NaOH на 100 см³ желудочного содержимого). Наиболее обильная секреция натошак наблюдается при язве двенадцатиперстной кишки.

Если тонким зондом ничего не удастся получить, то это указывает на органическое изменение желудочной стенки, наблюдающееся главным образом при ахилии различного происхождения.

Нередко, отсосав шприцем все содержимое желудка, не вынимают зонда, а насасывают повторно через каждые 10 минут, получая таким образом данные относительно секреции пустого желудка. Возможно, что лежащая в желудке олива, как указано, сама является раздражителем, вызывающим эту секрецию. В патологических случаях удается отсосать каждый раз более 12 см³.



2) Молочная кислота. Проба на молочную кислоту имеет такое же значение, как в желудочном содержимом после пробного завтрака. Методика реакции изложена ниже.

3) Микроскопия. Важные диагностические указания может дать изучение осадка под микроскопом; в этом отношении исследование содержимого, полученного натошак, дает больше, чем после пробного завтрака, даже жидкого, так как введенная жидкость, переходя в двенадцатиперстную кишку, может увлечь за собой часть осадка. При нормальных условиях в полученной жидкости содержится лишь немного слизи, оседающей на дно бокала в виде белых комочков. Под микроскопом находят лейкоциты, иногда в довольно большом количестве; протоплазма их обычно переварена, так что видны только ядра. Если при этом попадают единичные крахмальные зерна и даже более грубые остатки растительной пищи — фруктовые зерна или шелуха, листья салата и т. п. в единичных экземплярах, то это не говорит еще о патологическом застое. С целью обнаружить понижение эвакуаторной способности желудка целесообразно дать больному вечером богатую крахмалом пищу, например, рисовую кашу с коринкой или изюмом. При застое в желудочном содержимом натошак находят большое количество растительной клетчатки, мышечные волокна, капли жира, иглы жирных кислот, дрожжи, а иногда и сарцины или палочки молочнокислого брожения (см. ниже).

4) Белок. Количество белка во взятом натошак желудочном содержимом определяют по одному из способов, изложенных при описании этого исследования в моче. Было предложено определять его в промывных водах. Больной в течение целого дня должен воздерживаться от пищи, содержащей белок. Вечером ему промывают желудок, пока промывная вода не станет совершенно прозрачной; больного предупреждают, чтобы он не глотал слюны. Утром больному вводят натошак 400 см<sup>3</sup> физиологического раствора, извлекают жидкость обратно при помощи зонда и определяют в ней количество белка. При нормальных условиях в желудочном содержимом натошак белка не содержится или же он определяется в виде следов, если пользоваться тем же методом, что и в моче. При алиментарной дистрофии, остеомиелизите и почечных заболеваниях содержание белка в желудке возрастает (Разенков, Рубель, Соловьев). При определении белка желудочное содержимое должно быть тщательно отфильтровано — до прозрачности. При распадающейся раковой опухоли количество его доходит до 0,1—0,5%. Однако количество белка может быть повышено и при язве желудка.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖИМОГО ЖЕЛУДКА ПОСЛЕ ПРОБНОГО ЗАВТРАКА

### А. Одномоментные способы

1) Общие замечания. Для того чтобы судить о переваривающей, измельчающей и эвакуаторной функции желудка, больному дают пробный завтрак, извлекают его обратно и подвергают подробному исследованию. Само собой разумеется, что для того, чтобы получались сравнимые между собой данные, необходимо вводить каждый раз одни и те же вещества в том же количестве и обратное извлечение производить через строго определенный промежуток времени, всегда один и тот же; при этом срок пребывания пищи в желудке должен быть не слишком кратким, для того



чтобы к моменту извлечения работа желудка была в полном разгаре, но и не слишком продолжительным, так как в этом случае желудок иногда оказывается уже пустым.

2) **Пробный завтрак по Боасу и Эвальду.** Наиболее распространенным пробным завтраком до сих пор остается предложенный Боасом и Эвальдом: больному дают натощак 35 г черствого белого хлеба (без корок) и 400 см<sup>3</sup> жидкого чая без молока и сахара или столько же воды; убеждают больного жевать возможно тщательнее, чтобы зонд при извлечении не засаривался комками хлеба. Обратное извлечение желудочного содержимого следует производить через 60 минут. Через 2 часа желудок должен быть пуст. Время до извлечения завтрака больной должен провести в покое, без излишних движений и, само собой разумеется, ничего не пить, не есть и не курить.

Нередко извлекают пробный завтрак уже через 45 минут после того, как больной кончил есть. Это удобнее для больного, так как жидкости в желудке больше и извлечение совершается легче, но менее целесообразно. Выкачивание через еще более короткие промежутки времени не дает требуемых диагностических указаний; оно может только при наличии свободной соляной кислоты исключить ахилию.

## Б. Многомоментные способы

1) **Общие замечания.** При применении пробного завтрака по Боас-Эвальду предпочитают пользоваться толстым зондом, так как даже при самом тщательном разжевывании хлеба все же засоряются не только отверстия оливы, но и самый просвет тонкого зонда. Так как введение толстого зонда, даже если оно производится опытной рукой, представляет собой все же довольно неприятную, а иногда и не безразличную для больного процедуру, то его нельзя вводить несколько раз подряд, и, следовательно, приходится довольствоваться одномоментным исследованием. Клинические наблюдения показали, однако, что при этом получаются неполные, а иногда и неверные данные. Наибольшая высота пищеварения у различных людей достигается не в одинаковые промежутки времени: у одних быстрее, так что через 60 или даже через 45 минут степень кислотности и количество ферментов уже относительно уменьшены, у других, наоборот, медленнее, так что максимум в этот момент еще не достигнут. Таким образом, исследуя содержимое желудка через 60 или 45 минут после еды, можно диагностировать недостаточную кислотность или даже ахилию, тогда как на самом деле имеется лишь несколько ускоренное или замедленное развитие работы желудочных желез, или же пропустить гиперсекрецию (рис. 208). Грубейшие диагностические ошибки иногда возникают также вследствие обратного забрасывания дуоденального содержимого. Поэтому было предложено извлекать желудочное содержимое тонким зондом повторно в разные сроки, получая, таким образом, кривую секреции после пробного завтрака.

При фракционном выкачивании желудочного содержимого тонким зондом мы в течение нескольких часов наблюдаем весь секреторный процесс, а цифры кислотности в динамике могут быть выведены в виде кривых. Высказывались предположения, что эти кривые сами по себе оказываются патогномичными для определенных заболеваний, т. е. что на основании особенностей нарастания пищеварительной деятельности — крутого или медленного подъема кривой (первая половина кривой) и ее более или менее быстрого спадения (вторая половина кривой) — можно будет диагностировать злокачественное новообразование или язву желудка,



повышенную раздражимость желудка, полную атрофию желудочных желез и т. п. Но эта надежда пока не оправдалась (рис. 208).

Нет основания думать также, что получаемые нами таким путем сведения отражают обычную работу данного желудка. Условия, создаваемые при многомоментном выкачивании, далеки от физиологических. Длительное пребывание в желудке оливы, как указано, само по себе является раздражителем, хотя не все клиницисты с этим согласны; вероятно, небезразлично также, если в разгаре пищеварения внезапно удаляют все содержимое желудка: такое опорожнение его может создавать добавочный стимул для секреции.

Из сказанного понятно, что для повторного взятия желудочного содержимого необходимо пользоваться жидкими завтраками.

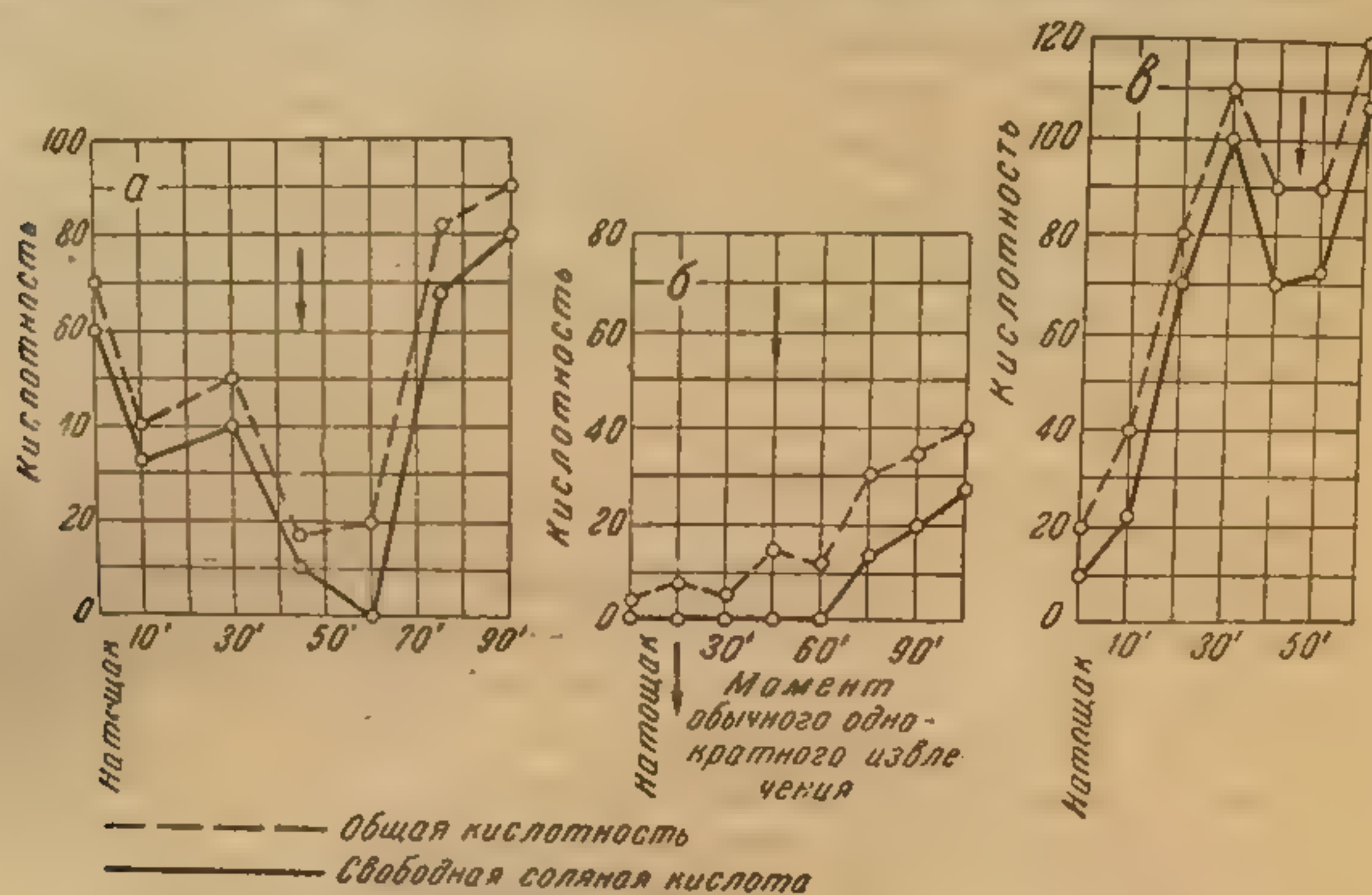


Рис. 208. Фракционное исследование желудочной секреции.

а — повышенная кислотность; вследствие забрасывания желчи однократное исследование дало бы пониженную кислотность; б — пониженная кислотность; при однократном исследовании был поставлен диагноз полной ахилии (поздняя секреция); в — очень резкое повышение кислотности, не проявляющееся в полной мере при однократном исследовании.

**2) Различные пробные завтраки.** Наибольшим распространением пользуются: 1) спиртовой завтрак по Эрману. Он состоит из 15 см<sup>3</sup> винного спирта и 285 см<sup>3</sup> дистиллированной воды; обычно к этой порции прибавляют 4—5 капель 0,5% раствора метиленовой синьки; 2) кофеиновый завтрак по Катчу: *Coffeini puri* 0,2 г (детям меньше), дистиллированной воды 400 см<sup>3</sup> и такое же количество синьки, как в спиртовом завтраке; 3) бульонный завтрак по Зимницкому: 400 г тощего мяса кипятят в 1 л воды, пока не останется всего 400 см<sup>3</sup> жидкости; 4) капустный завтрак по Лепорскому: кочан белой капусты, очищенный от верхних листьев, пропускают через мясорубку; собирают вытекающий сок; отжатый таким образом сок кипятят короткое время и фильтруют; получается слабо зеленоватая, почти прозрачная жидкость нейтральной реакции; удельный вес ее 1 007.

Если спиртовой завтрак Эрмана дают для одномоментного исследования, то извлекают его (толстым зондом) через 30 минут. Цифры нормальной кислотности несколько ниже, чем после пробного завтрака по Боас-исследования при помощи тонкого зонда, причем обычно соединяют его с подробным изучением работы голодного желудка.



3) Добывание желудочного сока тонким зондом. Ход исследования при спиртовом и при кофеиновом завтраке следующий. Вводят больному натошак тонкий зонд; извлекают при помощи шприца целиком все содержимое желудка. После этого снимают шприц, соединяют с зондом воронку и вливают через нее подогретое пробное питье. Если пробным питьем служит капустный сок, то вводят его в количестве 200 см<sup>3</sup> и извлекают обратно через 10 минут первую порцию в 100 см<sup>3</sup>, а через 25 минут — весь остаток. После этого продолжают извлекать каждые 15 минут, пока 2 попытки подряд не дадут отрицательного результата, — это считается концом секреции. При пользовании окрашенными жидкостями (спиртовым или кофеиновым завтраком) оставляют несколько кубических сантиметров для сравнения с цветом извлеченного желудочного содержимого (оценка степени разбавления желудочным секретом и быстроты эвакуации). Спустя 10 минут извлекают шприцем 10 см<sup>3</sup> и повторяют извлечение каждые 10 минут; каждый раз предварительно вдувают шприцем немного воздуха, чтобы равномерно смешать жидкость в желудке. Каждую порцию собирают в отдельную пробирку. Когда синее окрашивание исчезло, извлечение продолжают еще в течение часа, а иногда и больше, причем извлекают каждые 10 минут все содержимое желудка по возможности целиком, доотказа. Обычно его бывает менее 10 см<sup>3</sup>, так что если общее количество последующей секреции в течение часа превышает 80 см<sup>3</sup>, то можно предположить гиперсекрецию. Все исследования производят в каждой порции отдельно.

4) Испытание функциональной способности желудка по способу Зимницкого. Больному вводят тонкий зонд, удаляют все содержимое желудка, вводят через зонд 200 см<sup>3</sup> теплого бульона (приготовление см. выше) и выкачивают через 15, 30 и 45 минут по 10—15 см<sup>3</sup>; через 60 минут удаляют весь остаток бульона; тотчас вводят новую порцию в 200 см<sup>3</sup> и снова выкачивают 4 порции, как первый раз. Определяют общую и свободную кислотность в каждой из 8 порций отдельно и вычисляют все количество общей и свободной кислоты за первый и за второй час. При нормальных условиях сумма кислотности в течение второго часа немного (на 20—30 см<sup>3</sup> п/10 раствора NaOH на 100 см<sup>3</sup> желудочного содержимого) выше, чем в течение первого часа. Если раздражимость желудочных желез понижена, так что пищеварительная деятельность нарастает медленно, то кислотность второго часа резко превышает таковую первого часа (инертный тип секреции). При быстрой утомляемости желудочных желез степень кислотности последних четырех порций, наоборот, меньше, чем четырех первых (астенический тип). Различают также изосекреторный тип, когда секреторная деятельность первого и второго часа равна, — при отсутствии реакции как на первое, так и на второе раздражение.

5) Исследование функции желудка по Левину. Все обычные исследования желудочного содержимого, даже многомоментные при помощи тонкого зонда, дают лишь весьма приблизительные представления об истинной деятельности желудочной стенки, ввиду того что количество желудочного содержимого и его кислотность зависят в каждый отдельный момент от количества отделяемого желудочной стенкой секрета, от эвакуаторной деятельности желудка и от обратного забрасывания из двенадцатиперстной кишки. Поэтому при исследовании функции желудка желательно определять одновременно следующие величины: а) количество отделяемого стенкой желудка секрета и продолжительность реакции желудочной стенки на раздражение пробным завтраком; б) свойства секрета [кислотность на раздражение пробным завтраком), концентрация хлоридов и т. п.] чистого секрета (абсолютная кислотность),



и в) эвакуаторную способность желудка. Эта сложная задача до сих пор не может считаться сколько-нибудь удовлетворительно разрешенной, несмотря на многочисленные попытки, сделанные в этом направлении различными клиницистами. Приводим здесь способ, предложенный А. Е. Левиным.

Больному вводят натошак тонкий зонд, выкачивают все содержимое желудка и вливают через зонд 450 см<sup>3</sup> пробного завтрака. В качестве пробного завтрака автор предлагает пользоваться наиболее сильными раздражителями: мясным бульоном, 5—10% раствором спирта или капустным наваром (см. выше) с прибавлением к каждому из них 5—10 см<sup>3</sup> 0,4% раствора тимолблау. Тимолблау (тимолсульфонфталеин) готовят следующим образом: 1 г сухого индикатора растирают в ступке с 4,3 см<sup>3</sup> п/20 раствора едкого натра, доливают водой до 250 см<sup>3</sup> и фильтруют через двойной складчатый фильтр. Тщательно перемешав посредством вдувания воздуха через шприц содержимое желудка, тотчас извлекают 50 см<sup>3</sup> завтрака обратно; эта порция в дальнейшем служит для сравнения с ней всех последующих. Через каждые 15—20 минут большим шприцем быстро извлекают содержимое желудка, по возможности целиком, измеряют общее количество, оставляют 12—15 см<sup>3</sup> для исследования, а все остальное тотчас через тот же зонд вливают обратно. Содержимое желудка каждый раз тщательно перемешивают шприцем. Первую жидкость, оставленную для сравнения, наливают в количестве 20 см<sup>3</sup> в пробирку. От каждой из извлеченных через указанный промежуток времени порций в отдельную колбу наливают 5 см<sup>3</sup>. В каждой порции определяют общую кислотность титрованием п/10 или п/20 раствором едкого натра до слабозеленого или слабосинего окрашивания. В той же порции определяют количество хлора титрованием п/10 или п/20 раствором азотнокислого серебра; индикатором служит 10% раствор хромовокислого калия. Перед началом этого титрования жидкость подкисляют несколькими каплями 1% уксусной кислоты до перехода синеватой или зеленоватой окраски в лимонножелтую. Количество хлора выражают числом потраченных кубических сантиметров п/10 раствора азотнокислого серебра на 100 см<sup>3</sup> желудочного содержимого.

Каждую порцию, кроме того, подвергают колориметрированию. Для этой цели от каждой порции отмеривают 5 см<sup>3</sup> и подщелачивают слабым (0,5—1%) раствором едкого натра так, чтобы они были окрашены одинаково; так же поступают с пробным завтраком. Первые порции окрашены более интенсивно, чем последующие; поэтому к ним приходится прибавлять больше едкого натра; для простоты дальнейших расчетов увеличивают его в количестве, кратном пяти. Практически поступают так, что в последнюю (третью) порцию прибавляют столько едкого натра указанной концентрации, чтобы жидкость приняла синее окрашивание, удобное для колориметрии; обычно на это идет 15 см<sup>3</sup> едкого натра, т. е. получается разведение в 4 раза. Тогда в следующую с конца (вторую) порцию прибавляют 25 см<sup>3</sup> едкого натра (разведение в 6 раз), в первую порцию — 35 см<sup>3</sup> (разведение в 8 раз), а к пробному завтраку — 45 см<sup>3</sup> (разведение в 10 раз). При вычислении учитывают степень разведения:  $\frac{B_{ст}}{B_x}$  умножают на 4, 6, 8 соответственно для каждой порции и делят на степень разведения пробного завтрака (на 10).

Если в лаборатории нет тимолблау, можно заменить его фенолротом. Фенолрот (фенолсульфонфталеин) готовят следующим образом: 0,1 г сухого индикатора растирают в агатовой ступке с 5,7 см<sup>3</sup> п/20 раствора едкого натра и доливают водой до 500 см<sup>3</sup> или же растворяют его в соответствующем количестве подогретого спирта.



Все пробы фильтруют и колориметрируют. При вычислении учитывают разведение, как было указано. Полученное число указывает процентное содержание пробного завтрака в желудочном содержимом.

Вычитая полученную величину из 100, узнают количество выделенного желудочной стенкой секрета (в процентах). Так как общий объем желудочного содержимого в каждый отдельный момент известен, то, зная процентное содержание секрета и пробного завтрака, нетрудно вычислить и абсолютное количество того и другого. Если, например, объем какой-либо порции  $V$ , а процентное содержание пробного завтрака в этой порции  $m$ , то процентное содержание секрета  $n = 100 - m$ . Абсолютное количество пробного завтрака в этой порции соответствует  $\frac{V \times m}{100}$ , а количество секрета  $= V - \frac{V \times m}{100}$ .

Вычисление эвакуации производится следующим образом. Обозначим объем желудочного содержимого в начале какого-либо момента через  $V_1$ , процентное содержание в нем пробного завтрака через  $m_1$ , процентное содержание секрета через  $n_1$ , количество пробного завтрака в желудочном содержимом через  $P_1$  и количество секрета в нем через  $S_1$ , а соответствующие величины для конца того же промежутка времени через  $V_2$ ,  $m_2$ ,  $n_2$ ,  $P_2$  и  $S_2$ ; за этот промежуток времени эвакуация пробного завтрака:

$$E_p = P_1 - P_2;$$

эвакуация секрета:

$$E_s = E_p \times \frac{n_1 - n_2}{m_1 + m_2};$$

общая эвакуация:

$$E = E_p + E_s,$$

или

$$E_p = P_1 - P_2; E = \frac{200 \times E_p}{m_1 + m_2}; E_s = E - E_p.$$

Секреция за каждый промежуток времени вычисляется по формуле:

$$S = S_2 + E_s - S_1.$$

При определении кислотности, как было упомянуто, важно определить именно степень кислотности чистого секрета, а не секрета и пробного завтрака, как это производится обычно. Понятно, что кислотность всего желудочного содержимого складывается из кислотности секрета и кислотности пробного завтрака. Предположим, что кислотность всего желудочного содержимого равна  $a$ , т. е. при титровании 100 см<sup>3</sup> желудочного содержимого затрачивается  $a$  см<sup>3</sup>  $n/10$  NaOH. Если пробный завтрак имеет кислую реакцию, причем кислотность его равна  $b$  и его было введено  $m$  см<sup>3</sup>, то из кислотности желудочного содержимого на долю пробного завтрака приходится  $\frac{b \cdot m}{100}$ ; точно так же, если кислотность секрета соответствует  $A$  и количество его было найдено равным  $n$ , то на него затрачивается  $\frac{A \cdot n}{100}$  см<sup>3</sup> щелочи. Отсюда  $a = \frac{b \times m}{100} + \frac{A \times n}{100}$  и  $A = \frac{100a - m \cdot b}{n}$ . Если пробный завтрак нейтрален, то все вычисление упрощается и  $A = \frac{100a}{n}$ .

Приводим здесь заимствованный у автора пример исследования по его способу функции желудка после пробного завтрака (табл. 46).



Таблица 46

Время	Объем в см <sup>3</sup>	Содержимое желудка				Эвакуация			Секрция в см <sup>3</sup>	Свободная соляная кислота	Общая кислотность	Абсолютная кислотность	Концентрация соляной кислоты секрета в процентах	Муть	Слизь	Железо
		процентное содержание пробного завтрака	процентное содержание секрета	количество пробного завтрака в см <sup>3</sup>	количество секрета в см <sup>3</sup>	общая	пробного завтрака	секрета								
10 ч. 56 м.	Введение бульона: кислотность его								22							
11 ч. 16 м.	380	88	12	334	46	71	65	4	50	0	37	147	0,536			
11 ч. 36 м.	270	75	25	203	67	161	131	30	51	16	56	153	0,576			
11 ч. 56 м.	190	58	42	110	80	140	93	47	60	47	77	153	0,558			
12 ч. 16 м.	125	49	51	61	64	92	49	43	27	63	90	155	0,565	+		
12 ч. 36 м.	35	29	71	10	25	131	51	80	91	68	91	119	0,434	+	+	

Все исследование значительно упрощается, если предположить, что  $A$  (кислотность чистого желудочного сока) в течение всего секреторного периода не изменяется. Определение производят только в одной порции, предпочтительно во второй, процентное содержание завтрака вычисляют по формуле:

$$m = \frac{100(A - a)}{A - b}.$$

Эта формула выведена из приведенной выше:

$$A = \frac{100a - mb}{n} = \frac{100a - mb}{100 - m}.$$

Это видоизменение дает, по мнению автора, правильные результаты. Вычисляют также концентрацию хлора по аналогичной формуле:

$$\frac{100a}{100} = \frac{mb}{m},$$

где  $a$  — концентрация хлора в желудочном содержимом,  $b$  — концентрация хлора в пробном завтраке,  $m$  — процентное содержание завтрака в желудочном содержимом (определение титрованием азотнокислым серебром см. выше).

6) **Гистаминовая проба.** Из веществ, которые при подкожном введении вызывают секрецию желудочных желез, наиболее часто пользуются гистамином. Его легко дозировать, он является сильным стимулятором секрции и не вызывает побочных явлений за исключением кратковременного ускорения пульса и прилива крови к голове. Обычно вводят под кожу солянокислый или фосфорнокислый гистамин в количестве 0,1 мг на каждые 10 кг веса; некоторые предпочитают средние дозы от 0,25 до 1 мг независимо от веса.

Исследование производят утром натощак после 12-часового голодания. Вскоре после пробуждения больного ему вводят тонкий зонд и удаляют шприцем все содержимое желудка. Вводят гистамин под кожу и каждые 15 минут выкачивают шприцем все желудочное содержимое,



Время	Содержимое желудка				Эвакуация		Секретция в см <sup>3</sup>	Свободная соляная кислота	Общая кислотность	Абсолютная кислотность	Концентрация соляной кислоты секрета в процентах	Муль	Слизь	Жель
	Объем в см <sup>3</sup>	процентное содержание пробного завтрака	процентное содержание секрета	количество пробного завтрака в см <sup>3</sup>	количество секрета в см <sup>3</sup>	общая	пробного завтрака	секрета						
10 ч. 56 м.	Введение бульона: кислотность его				22									
11 ч. 16 м.	380	88	12	334	46	71	65	4	50	0	37	147	0,536	
11 ч. 36 м.	270	75	25	203	67	161	131	30	51	16	56	153	0,576	
11 ч. 56 м.	190	58	42	110	80	143	93	47	60	47	77	153	0,558	
12 ч. 16 м.	125	49	51	61	64	92	49	43	27	63	90	155	0,565	
12 ч. 36 м.	35	29	71	10	25	131	51	80	91	68	91	119	0,434	+

Все исследование значительно упрощается, если предположить, что  $A$  (кислотность чистого желудочного сока) в течение всего секреторного периода не изменяется. Определение производят только в одной порции, предпочтительно во второй, процентное содержание завтрака вычисляют по формуле:

$$m = \frac{100(A-a)}{A-b}$$

Эта формула выведена из приведенной выше:

$$A = \frac{100a - mb}{n} = \frac{100a - mb}{100 - m}$$

Это видоизменение дает, по мнению автора, правильные результаты. Вычисляют также концентрацию хлора по аналогичной формуле:

$$\frac{100a}{100} = \frac{mb}{m}$$

где  $a$  — концентрация хлора в желудочном содержимом,  $b$  — концентрация хлора в пробном завтраке,  $m$  — процентное содержание завтрака в желудочном содержимом (определение титрованием азотнокислым серебром см. выше).

6) Гистаминовая проба. Из веществ, которые при подкожном введении вызывают секрецию желудочных желез, наиболее часто пользуются гистамином. Его легко дозировать, он является сильным стимулятором секреции и не вызывает побочных явлений за исключением кратковременного ускорения пульса и прилива крови к голове. Обычно вводят под кожу солянокислый или фосфорнокислый гистамин в количестве 0,1 мг на каждые 10 кг веса; некоторые предпочитают средние дозы от 0,25 до 1 мг независимо от веса.

Исследование производят утром натощак после 12-часового голодания. Вскоре после пробуждения больного ему вводят тонкий зонд и удаляют шприцем все содержимое желудка. Вводят гистамин под кожу и каждые 15 минут выкачивают шприцем все желудочное содержимое,



пока секреция не прекратится; обычно это продолжается около часа. Измеряют объем каждой порции и определяют ее кислотность титрованием (см. ниже). Отмечают наибольшее количество сока, полученное за какой-либо из 15-минутных периодов, и наивысшую кислотность за такой же период, — эти данные характеризуют функциональную способность желудка.

Иногда инъекцию гистамина комбинируют с пробным завтраком. Вводят тонкий зонд, как для обычного многомоментного исследования, извлекают все желудочное содержимое, вводят один из жидких пробных завтраков и берут отдельные порции в течение 30—45 минут. Если ни в одной порции нет свободной соляной кислоты, впрыскивают под кожу гистамин в указанном выше количестве, берут еще 3 или 4 порции с промежутками в 15 минут и определяют их объем и кислотность.

Максимальный объем секрета, выделенного за 15 минут, колеблется у здоровых от 35 до 150 см<sup>3</sup>. Общая кислотность колеблется в огромных пределах, так что трудно указать границы нормы: чаще встречаются цифры от 90 до 126. Главное значение гистаминовой пробы заключается в том, что она дает возможность отличить истинную ахилию от случайной. Если после инъекции гистамина секреции не происходит, то имеется тяжелое поражение желудочных желез. При наличии первичной анемии гистамин-рефрактерная ахилия говорит за злокачественное малокровие.

## В. Исследование извлеченного желудочного содержимого

При исследовании желудочного содержимого отмечают количество и характер извлеченного содержимого, производят качественное и количественное химическое исследование и рассматривают осадок под микроскопом, отмечая присутствие некоторых микроорганизмов (сарцины, молочнокислые бациллы), количество и характер форменных элементов.

1) **Количество.** Количество извлеченного желудочного содержимого зависит от двух факторов, действующих во взаимнопротивоположном направлении: от количества жидкости, отделяемой желудочными железами, и от быстроты эвакуации. Скорость опорожнения в свою очередь зависит не только от состояния мышечного слоя желудка, но и от функции привратника. Связь между секреторной деятельностью желудка и состоянием привратника состоит в том, что при пониженной кислотности или ахилии привратник допускает быстрое опорожнение, тогда как высокая кислотность вызывает закрытие его. Но, помимо этого секреторно-рефлекторного момента, состояние привратника определяется еще вегетативной нервной системой, а также, конечно, чисто механическими условиями: наличием рубцов, сращений и т. п. Поэтому сделать какие-либо выводы из количества извлеченного содержимого вообще очень трудно, а тем более при применении толстого зонда, так как нет уверенности, что извлечено действительно все содержимое. Имеют значение консистенция содержимого (чем оно гуще, тем труднее извлечение), ширина просвета зонда, сила рвотных движений, выносливость больного, терпение и опытность врача. Чтобы избежать грубой ошибки в этом отношении, принимают все меры к полному опорожнению желудка: двигают зонд вперед и назад, наклоняют верхнюю половину туловища больного вперед, иногда прибегают к отсасывающим приборам; некоторые рекомендуют по окончании извлечения, не вынимая зонда, прополоскать желудок водой, чтобы убедиться в том, что в нем осталось уже только незначительное количество.

При нормальных условиях через час после пробного завтрака по Боас-Эвальду удастся извлечь не более 120—150 см<sup>3</sup>; если извлекается



значительно больше, например, 200—300 см<sup>3</sup>, то имеется или замедленное опорожнение, или повышенное сокоотделение. При расширении желудка вследствие стеноза привратника иногда удается извлечь 500—600 см<sup>3</sup>. Малое количество — 20 см<sup>3</sup> и даже меньше — является следствием или неполного извлечения, или усиленной перистальтики желудка, или неполного закрытия привратника вследствие рубца или хронического воспаления.

2) **Коэффициент расслоения.** Так называемый «коэффициент расслоения» дает некоторые косвенные указания относительно эвакуаторной функции желудка. Сбранному в конический градуированный бокал желудочному содержимому (после пробного завтрака по Боас-Эвальду) дают отстояться в течение 1—2 часов (в присутствии слизи отстаивание происходит медленнее, в отсутствие ее — быстрее). При нормальных условиях слой плотного остатка приблизительно равен слою жидкости, т. е. коэффициент расслоения равен 100 : 50; если жидкости больше, имеется гиперсекреция, в обратном случае — замедление эвакуации. Но этот признак ненадежный, так как жидкость извлекается зондом легче, чем плотные массы.

Иногда содержимое желудка при стоянии разделяется на три слоя: поверх жидкой части расположен слой пенистой слизи, нередко с примесью комков хлеба.

3) **Химификация.** Важное значение имеет характер извлеченных пищевых остатков — степень переваривания хлеба (химификация). Если желудочный сок содержит достаточное количество свободной кислоты и пепсина, то белый хлеб превращается в гомогенную массу, почти не содержащую более крупных комков. Наоборот, если переваривающая функция желудочного сока резко понижена, то желудочное содержимое имеет вид только что прожеванной и сейчас же выплюнутой пищи. Таким образом, уже по внешнему виду пищевой кашицы в большинстве случаев удается определить степень кислотности; при этом предполагается, однако, что больной хорошо жевал (здоровые зубы).

4) **Запах.** Запах желудочного содержимого при нормальных условиях соответствует запаху хлеба или он слегка кисловатый. В присутствии органических кислот (молочной, масляной, уксусной) он становится прогоркло-кислым, при дрожжевом брожении — резко кислым, при застое с явлениями разложения — неприятно гнилостным, при разложении жиров — резко прогорклым.

5) **Цвет.** Цвет желудочного содержимого при нормальных условиях желтовато-беловатый (цвет хлеба); примесь желчи окрашивает его при нормальной кислотности в зеленый цвет (переход билирубина в биливердин), при ахилии — в желтый цвет. От этого желтого цвета, вследствие примеси желчи, надо отличать желтовато-розоватую окраску жидкого чая: при пониженной секреции выпитый чай относительно мало разбавлен желудочным соком, и поэтому окраска его сохраняется. В присутствии крови цвет изменяется от красного до коричнево-черного в зависимости от количества крови и от степени кислотности среды.

При применении жидких завтраков, окрашенных метиленовой синькой, обесцвечивание (восстановление краски в бесцветное соединение) указывает на присутствие в желудке большого количества лейкоцитов и бактерий, не поврежденных кислым желудочным соком (ахилия, хронический гастрит).

6) **Слизь.** Слизь, содержащаяся в желудке, может быть различного происхождения. Проглоченная слизь из верхних дыхательных путей содержит много воздуха и поэтому плавает на поверхности извлеченного



желудочного содержимого, не смешиваясь с ним, — она не имеет никакого диагностического значения. Слизь, отделяемая желудочной стенкой, тесно смешана с пищевыми массами, оседает вместе с ними на дно и распознается по вязкой консистенции тянущегося нитями осадка. Немного слизи имеется и при нормальных условиях. Большое количество желудочной слизи служит признаком так называемого катарра желудка. Отсутствие слизи иногда наблюдается при ахилии вследствие атрофии слизистой оболочки желудка, иногда и при гиперсекреции вследствие повышенного переваривания ее. В других случаях, наоборот, при пониженной кислотности наблюдается большое количество слизи. Наличие последней определяется только макроскопически. Иногда наблюдается разделение желудочного содержимого на три слоя: на водянистом слое, отстоявшемся над плотной массой, лежит слой слизи, содержащей пузырьки воздуха (пенистая слизь) и комочки хлеба; это обычно наблюдается при газовом брожении в негомогенных взвешях; в данном случае такое разделение на три слоя тоже является признаком застоя в полости желудка с явлениями брожения.

**7) Реакция.** Желудочный сок отличается от других секретов своей резко кислой реакцией. При патологических условиях эта кислотность может усиливаться, ослабевать или даже совершенно исчезать. Определение реакции производится посредством синей лакмусовой бумажки. Если последняя не краснеет, значит, в содержимом желудка совсем нет никакой кислоты — *apaciditas*. Если же лакмусовая бумажка покажет, что желудочное содержимое имеет кислую реакцию, то необходимо выяснить, зависит ли эта кислая реакция от свободной соляной кислоты или от кислот брожения (молочной, масляной и уксусной), или от кислых солей (особенно от кислых фосфатов, которых в желудке бывает иногда довольно много). Для выяснения надо произвести ряд специальных реакций.

**8) Свободная соляная кислота.** а) Реакция с бумажкой конго. Красную бумажку конго смачивают исследуемым желудочным соком. В присутствии свободной соляной кислоты бумажка синее. б) Реакция с диметиламидоазобензолом. К небольшому количеству (нескольким каплям) желудочного сока прибавляют 1 каплю 0,5% спиртового раствора диметиламидоазобензола; в присутствии свободной соляной кислоты получается красное окрашивание. в) Реакция с флороглюцином. В фарфоровую чашечку наливают 2—3 капли реактива (флороглюцина 2 г, ванилина 1 г, алкоголя 30 см<sup>3</sup>) и 2—3 капли желудочного сока, смешивают и осторожно нагревают. При медленном испарении по краям образуется карминовокрасное окрашивание.

Свободную соляную кислоту находят во всех случаях, когда секреторная функция желудка не нарушена.

**9) Молочная кислота.** Молочная кислота образуется в результате патологического брожения, вызванного палочкой молочнокислого брожения. Обычно молочная кислота указывает либо на застой в желудке, либо на отсутствие соляной кислоты в желудочном соке, либо на оба фактора вместе.

а) **Проба первая.** В мерную колбу, содержащую около 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, приливают 2 капли 10% полторахлористого железа и 2 капли концентрированной соляной кислоты и доводят водой до метки. Вода окрашивается в едва заметный буроватожелтый цвет. Приготовленный раствор разливают по 10 см<sup>3</sup> в две чистые пробирки, прибавляют в одну из них по каплям профильтрованный желудочный сок (всего 5—6 капель) и сравнивают обе пробирки, рассматривая их на белом фоне.



В присутствии молочной кислоты раствор окрашивается в канареечно-желтый цвет; иногда это изменение цвета хорошо видно, если следить за падающей каплей. Для ясности в контрольную пробирку можно потом прибавить 2—3 капли очень слабого раствора молочной кислоты.

б) Проба вторая. Более точен и чувствителен следующий способ, при котором реакция производится не с желудочным содержимым как таковым, содержащим продукты переваривания, соляную кислоту и некоторые другие вещества, затемняющие реакцию, а с эфирной вытяжкой его. Отмеривают 5 см<sup>3</sup> профильтрованного или отцентрифугированного желудочного содержимого в маленькую делительную воронку, приливают 20 см<sup>3</sup> эфира и тщательно взбалтывают. Когда содержимое воронки разделится на слои, нижний слой отбрасывают, а слой эфира спускают в пробирку. Прибавляют к нему 20 см<sup>3</sup> воды и 2 капли 10% раствора полуторахлористого железа. В присутствии 0,05% молочной кислоты получается слегка зеленоватое, в присутствии 0,1% — интенсивное желтовато-зеленое окрашивание водного слоя.

в) Проба третья. К 20 см<sup>3</sup> 1% карболовой кислоты прибавляют 1 каплю полуторахлористого железа. Полученный темнофиолетовый раствор разводят водой до светлоаметистового цвета. В пробирку с этим реактивом приливают по каплям желудочный сок. Падающие на дно капли при наличии молочной кислоты изменяют цвет реактива в канареечножелтый.

Соляная кислота обесцвечивает полученную окраску, поэтому при наличии ее в желудочном содержимом проба на молочную кислоту значительно менее чувствительна.

Необходимо помнить, что небольшое количество молочной кислоты содержится в хлебе, поэтому слабо положительную реакцию можно получить в желудочном содержимом после пробного завтрака по Боас-Эвальду даже при совершенно нормальном желудке.

10) **Летучие жирные кислоты.** Присутствие летучих жирных кислот — масляной, уксусной и валериановой, — представляющих тоже продукты патологического брожения, определяют по их характерному запаху.

11) **Количественное определение кислот в содержимом желудка.** Все количественные определения лучше производить в свежем желудочном содержимом, так как при стоянии изменяются как общая кислотность его вследствие деятельности различных микроорганизмов, так и соотношение между свободной и связанной кислотами, вследствие продолжающихся *in vitro* пищеварительных процессов.

Определяют: а) общую кислотность, б) свободную соляную кислоту и в) связанную с белками соляную кислоту. Под свободной соляной кислотой в настоящее время понимают количество диссоциированных H- и Cl-ионов (актуальная кислотность), а под связанной соляной кислотой — количество недиссоциированных белково-солянокислых молекул, находящихся в состоянии лабильного равновесия (потенциальная кислотность). Общая кислотность соответствует сумме свободной и связанной соляной кислоты, но несколько превышает ее, так как в желудке имеется также небольшое количество кисло реагирующих фосфатов.

а) **Определение истинной кислотности.** Определение количества свободной соляной кислоты путем титрования щелочью, конечно, неточно и принципиально не может дать правильного представления об истинной кислотности желудочного содержимого, а следовательно, и о том, при каких условиях протекают в полости желудка пищеварительные процессы, — для этого следовало бы определять концентрацию водородных



ионов. Можно было бы пользоваться с этой целью индикаторным способом, описанным при исследовании мочи, но посредством индикаторных рядов Михаэлиса нельзя определить кислотности больше  $pH=2,8$ , а нормальное желудочное содержимое имеет более кислую реакцию, поэтому чаще приходится прибегать к другому способу. В 7 пробирок одинакового стекла и диаметра отмеривают:

Таблица 47

	Номера пробирок						
	1	2	3	4	5	6	7
n/10 HCl (в см <sup>3</sup> ) . . . . .	6,35	4,0	2,5	1,6	1,0	0,63	0,4
Дистиллированная вода (в см <sup>3</sup> ) . . . . .	3,65	6,0	7,5	8,4	9,0	9,37	9,6
pH смеси . . . . .	1,1	1,3	1,5	1,7	1,9	2,1	2,3

Можно приготовить эти растворы в большом количестве в хорошо закрывающихся склянках и брать по мере надобности по 10 см<sup>3</sup> от каждого из растворов в отдельную, соответствующим образом занумерованную пробирку. В восьмую пробирку такого же стекла и диаметра отмеривают 10 см<sup>3</sup> профильтрованного желудочного содержимого. В каждую пробирку приливают по 0,5 см<sup>3</sup> 0,2% раствора кристаллвиолета и сравнивают окраску, полученную в желудочном содержимом, с окраской стандартных пробирок. Сравнение производят в компараторе (см. «Определение концентрации водородных ионов в моче»); если желудочный сок был окрашен, то небольшое количество его отфильтровывают еще в одну пробирку и ставят ее за стандартной, чтобы дополнить ее цвет; за пробиркой с окрашенным кристаллвиолетом желудочным содержимым ставят пробирку с водой. Если трудно определить, к какой из двух соседних стандартных пробирок больше всего подходит окраска желудочного содержимого, то берут среднюю величину.

На практике, однако, и сейчас еще свободную HCl определяют путем титрования. Опыт показал, что разница между кислотностью, определяемой посредством индикаторов, и той величиной, которая получается при титровании, в большинстве случаев настолько мала, что не имеет диагностического значения; в то же время титрование гораздо проще. Поскольку под общей кислотностью мы понимаем сумму актуальной и потенциальной кислотности, то при титровании ее щелочью получают пригодные результаты.

б) Определение общей титрационной кислотности. В химический стаканчик или фарфоровую чашечку наливают 10 см<sup>3</sup> (или 5 см<sup>3</sup>) профильтрованного или отцентрифугированного желудочного сока, прибавляют в качестве индикатора 1—2 капли 1% спиртового раствора фенолфталеина и титруют из бюретки при постоянном помешивании n/10 раствором едкого натра до появления и исчезающего розового окрашивания. Титрование производят на белом фоне. Если желудочный сок окрашен желчью или другой примесью, его разбавляют небольшим количеством воды, чтобы легче было заметить конец реакции.

Общую кислотность принято выражать числом кубических сантиметров n/10 раствора едкого натра, необходимым для нейтрализации 100 см<sup>3</sup> желудочного сока, поэтому для вычисления общей кислотности исследуемого сока нужно число кубических сантиметров n/10 раствора NaOH, потраченное при титровании 10 см<sup>3</sup> сока, помножить на 10 (или на 20, если для титрования взято было 5 см<sup>3</sup> желудочного сока).



Боас различает по степени кислотности:

1) нормальную кислотность — для нейтрализации 100 см<sup>3</sup> желудочного содержимого требуется 40—60 см<sup>3</sup> п/10 NaOH;

2) пониженную кислотность — при тех же условиях требуется менее 30 см<sup>3</sup> п/10 NaOH;

3) повышенную кислотность — требуется более 60 см<sup>3</sup> п/10 NaOH.

Так как возможны случайные колебания в довольно больших пределах, то нахождение для общей кислотности 30 или 75 единиц не должно служить основанием для каких-либо диагностических выводов.

в) Определение свободной соляной кислоты. Ее титруют также п/10 раствором едкого натра, только в качестве индикатора берут не фенолфталеин, а 0,5% спиртовой раствор диметиламиноазобензола.

Концом реакции считается тот момент, когда жидкость из чисто красной становится желтовато-красной. Титрование до чисто желтого цвета дает неправильные (слишком высокие) цифры.

Свободную кислотность обычно тоже выражают числом кубических сантиметров п/10 раствора едкого натра, так что расчет точно такой же, как для общей кислотности, но можно выразить ее в граммах соляной кислоты: 1 см<sup>3</sup> п/10 раствора едкого натра соответствует 0,00365 г соляной кислоты. Если при титровании было потрачено 4,2 см<sup>3</sup> щелочи, то 10 см<sup>3</sup> исследуемого желудочного содержимого содержат  $0,00365 \times 4,2$  г соляной кислоты, а 100 см<sup>3</sup> — в 10 раз больше, т. е. 0,153 г соляной кислоты, или 0,15%.

Оба титрования можно произвести в одной порции желудочного содержимого; отмеривают в стаканчик 10 (или 5) см<sup>3</sup> профильтрованного или отцентрифугированного желудочного содержимого, прибавляют небольшую каплю диметиламиноазобензола и титруют до указанной выше окраски; отмечают количество потраченного п/10 раствора; приливают 1—2 капли фенолфталеина и продолжают титровать до появления исчезающего розового окрашивания; отмечают потраченное количество щелочи. Свободной HCl соответствует количество щелочи, потраченное при первом титровании, общей кислотности — количество щелочи, потраченной от начала титрования до конца его, т. е. сумма первого и второго титрования.

Пример. Уровень жидкости в бюретке перед началом исследования — 38,0, по окончании титрования на диметиламиноазобензол — 42,0, по окончании титрования на фенолфталеин — 43,8. Количество свободной соляной кислоты 100 см<sup>3</sup> желудочного содержимого равно:  $(42,0 - 38,0) \times 10 = 40$ ; общая кислотность в 100 см<sup>3</sup> равна:  $(43,8 - 38,0) \times 10 = 58$ . Если для титрования было взято 5 см<sup>3</sup> желудочного содержимого, то умножают не на 10, а на 20.

г) Определение связанной соляной кислоты. Для определения количества связанной соляной кислоты 10 см<sup>3</sup> желудочного содержимого титруют п/10 раствором едкого натра, пользуясь в качестве индикатора 1% водным раствором ализаринсульфоновокислого натрия, желтый цвет которого должен измениться в фиолетовый. Ализарин реагирует кисло, пока не нейтрализованы все кисло реагирующие вещества, за исключением связанной соляной кислоты. Вычтя из общей кислотности кислотность, полученную при титровании с ализарином, получим количество связанной кислоты.

Положим, что при титровании общей кислотности на 10 см<sup>3</sup> желудочного сока потрачено 6,5 см<sup>3</sup> п/10 раствора едкого натра, при титровании с ализарином — 4,5 см<sup>3</sup>. Следовательно, на связанную соляную кислоту в 10 см<sup>3</sup> сока приходится  $6,5 - 4,5 = 2$  см<sup>3</sup> п/10 раствора едкой



щелочи, что в свою очередь соответствует  $0,0036 \text{ г} \times 2$ , т. е.  $0,0072 \text{ г}$ , или  $0,072\%$  соляной кислоты. Зная количество свободной и связанной кислоты, легко определить все количество соляной кислоты. В норме оно равно около  $0,2\%$ .

д) Определение кислотности по Михаэлису. Определение связанной соляной кислоты производят одновременно с определением свободной  $\text{HCl}$  и общей кислотности в одной и той же порции фильтрата: отмеривают  $10$  (или  $5$ )  $\text{см}^3$  профильтрованного желудочного содержимого, прибавляют небольшую каплю диметиламидазобензола и  $1-2$  капли фенолфталеина и приливают щелочь. Уровень щелочи в бюретке отмечают: 1) перед началом титрования, 2) в момент перехода красного цвета жидкости в красно-желтый, 3) в момент исчезновения красного оттенка (жидкость становится лимонножелтой и не изменяется при прибавлении нескольких следующих капель) и 4) в момент появления исчезающего розового окрашивания. Разность между вторым и первым уровнем соответствует количеству свободной соляной кислоты; разность между последним и первым уровнем — общей кислотности, а среднее арифметическое между вторым и третьим уровнем соответствует всей соляной кислоте, т. е. сумме свободной и связанной, откуда количество связанной кислоты определяется путем вычитания. Количество связанной соляной кислоты невелико, и обычно на титрование его затрачивают не более  $10-12 \text{ см}^3$   $\text{p}/10$  раствора  $\text{NaOH}$  (на  $100 \text{ см}^3$  желудочного содержимого). Если же связанной соляной кислоты содержится больше, то это указывает на то, что часть соляной кислоты, отделяемой желудочными железами, связывается каким-то патологическим продуктом, чаще всего продуктами белкового распада при язве желудка или изъязвляющейся раковой опухоли.

Сумма свободной и связанной соляной кислоты немного меньше общей кислотности желудочного содержимого, так как  $2-4 \text{ см}^3$   $\text{p}/10$  раствора  $\text{NaOH}$  идут на нейтрализацию кислых фосфатов (в  $100 \text{ см}^3$ ).

е) Определение дефицита свободной соляной кислоты. Если в желудочном содержимом вовсе нет свободной соляной кислоты, то титруют дефицит ее, т. е. определяют то количество соляной кислоты, которое нужно прибавить к желудочному содержимому, чтобы получить положительную реакцию на свободную соляную кислоту. К  $10 \text{ см}^3$  желудочного содержимого прибавляют 1 каплю диметиламидазобензола и приливают  $\text{p}/10$  раствор  $\text{HCl}$  до появления красно-желтого оттенка. Потраченное количество кубических сантиметров  $\text{HCl}$ , приведенное к  $100 \text{ см}^3$ , соответствует дефициту соляной кислоты.

12) **Определение переваривания углеводов.** Расщепление принятых с пищей углеводов происходит под влиянием слюнного фермента птиалина, причем крахмал превращается сначала в растворимый крахмал (амидулин), дающий с иодом фиолетовую окраску, затем в эритродекстрин, окрашивающийся с иодом в красный цвет, и, наконец, в ахроодекстрин и мальтозу, не дающие окрашивания с иодом. Так как соляная кислота приостанавливает действие птиалина, то реакция на усвоение крахмала может служить контрольным методом для определения секреции соляной кислоты. Чем больше секретруется соляной кислоты, тем раньше приостанавливается расщепление, в отсутствие же соляной кислоты оно идет до конечных своих продуктов — ахроодекстрина и мальтозы.

Ход исследования. К небольшому количеству желудочного содержимого осторожно по каплям прибавляют разведенный люголевский раствор; при резко повышенной кислотности появляется фиолетовое окрашивание (амидулин), при нормальной кислотности — красное окрашивание



(эритродекстрин), при отсутствии соляной кислоты цвет реактива не изменяется (ахроодекстрин).

13) **Определение желчи.** Присутствие желчи в желудочном содержимом определяется так же, как в моче, но обычно химической реакции не требуется, так как желчь окрашивает желудочное содержимое в характерный травянисто-зеленый (в присутствии свободной соляной кислоты) или желтый (при ахилии) цвет.

14) **Определение крови.** Для обнаружения крови больше частью производят реакцию с бензидином. Способ применяют тот же, что и с фекальными массами. Пользуются нефiltroванным желудочным содержимым, предварительно нейтрализовав его содой.

Присутствие свежей (алой) крови не дает достаточного основания предполагать свежую язву или кровоточащее новообразование, так как рыхлая слизистая оболочка желудка может повреждаться зондом; кроме того, у многих больных легко кровоточат десны, так что к желудочному содержимому примешивается кровянистая слюна, и т. п.

Наличие побуревшей крови в только что выкачанном желудочном содержимом имеет большое диагностическое значение, так как может указывать на кровотечение, бывшее уже до выкачивания, если нет основания предполагать наличия проглоченной крови. Осматривать извлеченный материал необходимо тотчас, так как в присутствии соляной кислоты побурение крови совершается очень быстро, иногда уже в момент выкачивания.

15) **Определение пепсина.** а) Качественное определение. В пробирку наливают небольшое количество профильтрованного желудочного сока, кладут туда маленький кусочек хорошо промытого фибрина (получается взбалтыванием свежей бычьей крови, добытой при убое) и ставят в термостат ( $37^{\circ}$ ). При нормальных условиях фибрин через полчаса совершенно или почти совсем растворяется. В тех случаях, когда желудочный сок свободной соляной кислоты не содержит, прибавляют 2,5% соляной кислоты, приблизительно 1 см<sup>3</sup> на 20 см<sup>3</sup> желудочного сока (оптимум действия пепсина при  $pH = 1,4 - 1,7$ ).

Можно употреблять фибрин, пропитанный раствором кармина. При переваривании такого фибрина жидкость окрашивается в более или менее интенсивный красный цвет. Сали советует брать 0,1 г такого промытого и отжатого фибрина на 5 см<sup>3</sup> желудочного сока. При таком количественном соотношении желудочный сок уже через 5—10 минут при комнатной температуре заметно окрашивается в красный цвет.

Вместо фибрина, добывание которого иногда бывает затруднительно, можно брать кружочки свернутого яичного белка.

Яйцо варят не более 5 минут, иначе последующее переваривание будет затруднено. Нарезают белок острым ножом или бритвой на слои толщиной в 1,5 мм и вырезают из них кусочки величиной около 10 мм; хранят их в глицерине. Отмеривают в пробирку 10 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, прибавляют 0,3 г продажного пепсина и 3 капли n/10 раствора соляной кислоты, опускают в жидкость кусочек белка, ставят в термостат при  $37^{\circ}$  и наблюдают за ходом переваривания. Время, необходимое для полного переваривания кусочка белка, обозначают на флаконе.

Перед употреблением тщательно отмывают кусочек белка от глицерина, погружают его в пробирку, содержащую 10 см<sup>3</sup> желудочного содержимого, закрывают пробкой и помещают в термостат; наблюдают каждый час в продолжение 3 или больше часов. Одновременно ставят вторую пробирку с таким же содержимым, но прибавляют в нее 3 капли n/10 раствора соляной кислоты. Если в первой пробирке переваривание белка



закончилось в нормальное время (обозначенное на флаконе), то количество пепсина и кислотность нормальны. Если переваривание произошло только во второй пробирке, то пепсин в желудочном содержимом имеется, а количество соляной кислоты недостаточно. Если переваривания не произошло и во второй пробирке, то в желудочном содержимом нет и пепсина (если свойства белка были проверены, как указано выше).

б) Количественное определение пепсина по способу Метта. Приготовление белковой трубочки: смешивают белок из нескольких яиц, фильтруют его сквозь тряпочку; если в белке имеются пузыри воздуха, ставят его на несколько часов в эксикатор. Приготавливают тонкостенные стеклянные трубочки с просветом в 1 или 2 мм, тщательно моют их, сушат и нарезают кусочками длиной в 10—12 см. Насасывают в них белок; один конец заклеивают. Наливают в кастрюлю воды и нагревают ее до кипения; снимают с огня и дают остыть до  $85^{\circ}$ ; погружают в воду трубочки с белком в горизонтальном положении и оставляют под водой, пока она не остынет. Трубочки вынимают из воды, заклеивают оба конца воском; их можно хранить несколько месяцев. Для исследования отрезают кусочек трубочки длиной около 2 см и тотчас погружают в желудочное содержимое. Обычно пользуются для этой цели двумя маленькими колбочками или пробирками, в которые отмеривают по  $1\text{ см}^3$  желудочного содержимого и по  $15\text{ см}^3$   $n/20$  раствора соляной кислоты, в каждую колбочку опускают по две трубочки и ставят в термостат на 24 часа. По истечении указанного срока трубочки извлекают и измеряют при помощи лупы длину переваренного белкового столбика; измерение производят с обоих концов каждой трубочки. Берут среднее из восьми измерений. Пептическая активность соответствует квадрату полученной величины; если в среднем было переварено 2,2 мм белкового столбика, то пептическая сила смеси равна  $4,84$ , а для неразведенного сока  $(4,84 \times 16) = 77,44$ .

Можно пользоваться для этой цели раствором казеина: берут 1 г казеина, растирают с  $16\text{ см}^3$   $25\%$   $\text{HCl}$  (уд. вес 1,124), постепенно растворяют на водяной бане, подогревая раствор до  $40-50^{\circ}$ , и прибавляют воды до 1 л. В ряд пробирок разливают по  $10\text{ см}^3$  этого раствора, прибавляют в нисходящих дозах желудочный сок: 1,0, 0,9, 0,8  $\text{см}^3$  и т. д. и ставят на сутки в термостат. Чтобы исключить влияние бактерий, прибавляют тимол, хлороформ или толуол. Через 24 часа ко всем пробиркам прибавляют концентрированный раствор уксуснокислого натрия и отмечают пробирку, в которой казеин не переварился.

Стойкое отсутствие пепсина, и соляной кислоты может быть обусловлено атрофией желудочных желез, что характерно для злокачественного малокровия. Наличие пепсина при отсутствии кислотности встречается в тех случаях, когда секреция кислоты фактически происходит, но кислота в значительной степени нейтрализуется. Это наблюдается при наличии отделяемого с поверхности язвы, в первую очередь раковой.

16) **Определение трипсина.** Реактивы: 1) раствор казеина: 0,4 г казеина растворяют в  $40\text{ см}^3$   $n/10$  раствора едкого натра, приливают  $130\text{ см}^3$  воды и  $30\text{ п/10}$  раствора соляной кислоты; 2)  $1\%$  раствор фенолфталеина в  $95\%$  спирте; 3)  $2\%$  раствор двууглекислого натрия; 4) для осаждения белка служит жидкость, содержащая  $1\text{ см}^3$  ледяной уксусной кислоты в  $50\text{ см}^3$   $95\%$  спирта, разбавленного  $50\text{ см}^3$  воды.

Ход определения. В ряд пробирок, кроме первой, наливают по  $0,5\text{ см}^3$  дистиллированной воды. Отмеривают в первую и вторую пробирки по  $0,5\text{ см}^3$  желудочного содержимого; из второй пробирки после тщательного смешивания переносят  $0,5\text{ см}^3$  в третью пробирку, оттуда таким же образом переносят  $0,5\text{ см}^3$  в четвертую и т. д. до последней пробирки.



из которой  $0,5 \text{ см}^3$  после смешивания выливают. Прибавляют в каждую пробирку по 1 капле фенолфталеина (2) и нейтрализуют содой (3), прибавляя ее по каплям до появления слабозеленого окрашивания. Прибавляют в каждую пробирку по  $0,5 \text{ см}^3$  казеина (1) и ставят в водяную баню при  $40^\circ$  на 5 часов. Одновременно ставят 2 контрольные пробирки: в первую помещают  $0,5 \text{ см}^3$  желудочного содержимого, предварительно прокипяченного для уничтожения фермента, во вторую отмеривают столько же воды и в дальнейшем поступают с ними так же, как с остальными пробирками. По истечении указанного срока прибавляют осаждающую жидкость (4): если казеин переварен, то жидкость в пробирке остается прозрачной; в обратном случае появляется помутнение. В обеих контрольных пробирках жидкость должна помутнеть, так как казеин не должен быть переварен.

**Вычисление.** Если в третьей пробирке, в которой желудочное содержимое было разведено в 4 раза, произошло полное переваривание, то триптическая активность желудочного содержимого соответствует 4.

**17) Определение липазы.** Фермент, расщепляющий жиры (липаза), можно определить по следующему способу (хотя это делается исключительно редко).

Смешивают  $10 \text{ см}^3$  разведенного куриного желтка (1 желток на  $30\text{--}40 \text{ см}^3$  воды) с отмеренным количеством исследуемого желудочного сока, предварительно нагрев жидкость до  $37\text{--}40^\circ$ . Затем ставят на 2 или 3 часа в термостат при  $37\text{--}40^\circ$ . После охлаждения приливают  $75 \text{ см}^3$  эфира и несколько кубических сантиметров спирта и взбалтывают. Жирные кислоты переходят в эфир. Берут  $20 \text{ см}^3$  эфирной вытяжки, прибавляют около  $20 \text{ см}^3$  спирта и титруют  $n/10$  раствором  $\text{NaOH}$  до слабозеленого цвета, причем индикатором служит фенолфталеин. Таким путем определяют образовавшиеся жирные кислоты. К нейтрализованной таким образом жидкости затем прибавляют точно  $10 \text{ см}^3$  нормального раствора  $\text{NaOH}$  и оставляют стоять 24 часа при комнатной температуре в хорошо закрытом сосуде или кипятят в течение двух часов на водяной бане с обратным холодильником, который снабжен трубкой с натронной известью, чтобы не допускать поглощения  $\text{CO}_2$ . Эта операция производится для омыления оставшегося нейтрального жира. К жидкости прибавляют точно  $10 \text{ см}^3$  нормального раствора  $\text{HCl}$ , чтобы освободить жирные кислоты и нейтрализовать прибавленный ранее едкий натр, и титруют в присутствии фенолфталеина  $n/10$  раствором  $\text{NaOH}$ . Полученное число указывает на количество жирных кислот, получившихся после омыления, т. е. не разложенных ферментом. Из полученных цифр можно определить, какой процент жира был расщеплен ферментом. Квадрат этой цифры, деленный на время переваривания, дает количество единиц фермента в употребленном количестве желудочного сока.

**18) Определение сычужного фермента.** Смешивают  $10 \text{ см}^3$  свежего молока с  $1\text{--}2 \text{ см}^3$  фильтрата желудочного сока, точно нейтрализованного. При наличии фермента молоко, помещенное в термостат при  $37^\circ$ , свертывается через  $10\text{--}20$  минут, причем реакция молока не изменяется.

Количественное определение сычужного фермента производится по следующему способу: в пробирку наливают  $1 \text{ см}^3$  профильтрованного желудочного содержимого и доливают до  $10 \text{ см}^3$  водой; затем из этой пробирки переносят во вторую пробирку  $5 \text{ см}^3$  и приливают столько же воды; в третью пробирку переносят  $5 \text{ см}^3$  из второй и точно так же разводят водой и т. д.; таким образом получают разведения в 10, 20, 40, 80, 160 и 320 раз. После этого в каждую из этих пробирок и в контрольную, содержащую  $5 \text{ см}^3$  воды, приливают по  $5 \text{ см}^3$  кипяченого молока



и по 2,5 см<sup>3</sup> 1% раствора хлористого кальция и помещают в водяную баню при 40°. Через 20 минут пробирки вынимают и отмечают, какое разведение дало свертывание молока. В норме разведение в 160 раз дает еще плотный сверток; при ахилии свертывание получается иногда только с разведением в 10 раз или не получается вовсе.

19) **Определение хлора.** Определение хлора в желудочном содержимом производится по способу Фольгардта так же, как было описано для крови и мочи. Азотнокислого серебра (п/10 раствор) приходится прибавлять 6—10 см<sup>3</sup> на 5 см<sup>3</sup> желудочного содержимого.

Можно удовлетвориться определением хлора без предварительного озоложения. Титрование можно производить в той же порции желудочного содержимого, в которой уже были определены общая кислотность и свободная соляная кислота. Прибавляют 2 см<sup>3</sup> концентрированной азотной кислоты, 1 см<sup>3</sup> насыщенного раствора железо-аммиачных квасцов и 5 см<sup>3</sup> п/10 раствора азотнокислого серебра; титруют п/10 раствором роданистого аммония. Если от первой капли его уже получается коричнево-бурое окрашивание, прибавляют еще несколько кубических сантиметров серебра.

Вычисление. См. «Определение хлора в моче», стр. 343.

Общее количество хлора уменьшено при тяжелых ахилиях; при более легких формах оно может оставаться нормальным.

Диагностическое значение имеет не только общее количество хлора, имеющегося в желудочном содержимом, а и более детальное изучение формы, в которой он в нем находится. Часть хлора связана в желудочном содержимом в виде соляной кислоты, остальная часть находится в нем в виде солей. Эту часть определяют вычетом из общего хлора того количества хлора, которое содержится в нем в виде соляной кислоты.

А. Е. Левиным предложено вычислять на основании этих данных два показателя: отношение кислотного хлора к суммарному, выраженное в процентах, — кислотный показатель — и отношение солевого хлора к суммарному, тоже в процентах, — хлорный показатель. Для вычисления этих показателей количество хлора выражается в титриметрических единицах, т. е. количеством кубических сантиметров п/10 раствора азотнокислого серебра, которое было бы потрачено при титровании 100 см<sup>3</sup> желудочного содержимого. Например, общее количество хлора соответствует 160 титриметрическим единицам, кислотный хлор (хлор соляной кислоты) соответствует 120 титриметрическим единицам; следовательно, солевой хлор содержится в количестве  $(160 - 120) = 40$  титриметрических единиц. Отсюда кислотный показатель равен  $\left(\frac{120 \cdot 100}{160}\right) 75$ , а хлорный показатель равен  $\left(\frac{40 \cdot 100}{160}\right) 25$ .

Концентрация суммарного хлора обычно колеблется от 120 до 160 титриметрических единиц (0,43 — 0,53%) с максимумом до 204 (0,72%) и минимумом до 43 (0,15%).

Хлорный показатель у здоровых колеблется в пределах от 27 до 35. Между хлорным показателем и количеством секрета имеется определенное взаимоотношение, хотя и не строго закономерное: при высоком хлорном показателе количество секрета понижено и наоборот. В отдельных порциях в пределах одного исследования сохраняется постоянное соотношение между солевым и кислотным хлором. Чтобы эти показатели могли получить диагностическое значение, пробный завтрак должен иметь нейтральную реакцию, не должен содержать хлора и должен оказывать сильное сокогонное действие. К желудочному содержимому не должна быть



примешана желчь. Наилучшие результаты получаются при подкожном впрыскивании гистамина с последующим введением воды.

При пониженной функции желудочной стенки, вследствие экстрагастральных заболеваний (тирсотоксикоза, холецистита, аддисоновой болезни), общее количество хлора довольно высокое; абсолютная кислотность и количество кислотного хлора понижены; солевой хлор и хлорный показатель повышены. При гиперфункции экстрагастрального происхождения (неврозах желудка) хлорный показатель, наоборот, понижен (22—27); остальные данные колеблются, обнаруживая, однако, высокую секреторную активность желудка. При язвах желудка и двенадцатиперстной кишки хлорный показатель резко понижен (15—21), количество секрета обычно повышено до явной гиперсекреции. При гастритах хлорный показатель часто повышен, причем изменяется на протяжении исследования: в первых порциях он выше, чем в последующих. Кроме того, нарушено взаимоотношение между хлорным показателем и количеством сока: последнего больше, чем можно было бы ожидать по величине показателя. В ряде случаев понижено количество общего хлора.

**20) Хромоскопия желудка.** Хромоскопия желудка есть метод исследования функции желудочных желез, основанный на способности последних выделять из крови и тканей введенные парэнтерально красящие вещества. Хромоскопия желудка представляет собой метод изучения экскреторной функции желудка.

Нормально, если внутримышечно ввести 2 см<sup>3</sup> 1% раствора нейтрального нитрита, он появляется в желудке через 15—18 минут. При воспалительных или дегенеративных изменениях в желудке, особенно в его антральном отделе, выделение красящего вещества запаздывает, а иногда оно совсем не появляется. При почечной недостаточности, когда основной экскреторный орган поражен, нейтральный нитрит выделяется желудком через 5—7 минут, т. е. быстрее, чем в мочевом пузыре. При раке желудка выделение нейтрального нитрита запаздывает.

**21) Определение количества остаточного азота в желудочном содержимом.** а) Методика определения. К 5 см<sup>3</sup> тщательно отфильтрованного желудочного содержимого прибавляют несколько капель 1% спиртового раствора фенолфталеина и 10 капель 45% сернокислого цинка. К этой смеси добавляют по каплям крепкого раствора едкого натра до нейтральной реакции и дистиллированной воды до 10 см<sup>3</sup>. Раствор ставят в кипящую баню на 5 минут. После остывания его фильтруют. Ввиду того что при осаждении сернокислым цинком не все белковые элементы осаждаются, рекомендуется произвести двойное осаждение, прибавив 0,25 см<sup>3</sup> полученного фильтрата к 2,75 см<sup>3</sup> фосфорно-молибденовой кислоты. После этого производят определение остаточного азота по Аселю или Кьельдалю. Полученные цифры умножают на два. Для определения остаточного азота в желудочном содержимом необходимо добывать его зондом натошак, причем первые порции, содержащие слюну или другие примеси, должны быть оставлены. Рвотные массы, содержащие остатки пищи или выпитой жидкости, могут дать неверные показатели.

б) Диагностическое значение. В нормальном состоянии в желудочном содержимом натошак содержит определенное количество остаточного азота — от 18 до 28 мг% (Кончаловский, Поспелов и др.). При почечной недостаточности, при некоторых формах гипертонии количество остаточного азота, выделяемого желудком, повышается, в то время как остаточный азот крови в это время еще в пределах нормы. При дальнейшем же развитии процесса остаточный азот и в желудке

падает. Это явление  
шестьдесят восемь  
22) Микроскопия  
исследования по  
мое желудка на  
завтрака. Все это  
не только микро  
и от состава пр  
в желудке, и от  
их могут входи  
эпителиальные к  
Каплю рвотн  
желудочного со  
ным и рассматр  
микропом обы  
увеличением  
осветите те.

а) Крахм  
на. Крахмальн  
слоистых шаро  
личины и форм  
цию на иод (си  
бавления люго  
ра), встречаются  
желудочном соде  
стоятельного  
значения не и  
210 и 211).

б) Мыш  
на. Мышечны  
характерную  
сатость. По  
резко бывает  
пониженной сек  
сока. Впрочем  
достаточной  
ная полосат  
волокна очен  
желудочном

в) Жи  
в форме к  
много жира  
молока. Ж  
содержаще  
рождения.

г) Ра  
образны; с  
гностическ

д) Эл  
из желудка  
состав же

Харак  
топлазма п  
тивляются

32 Руководств



падает. Это является плохим прогностическим признаком и обычно предшествует повышению азотистых шлаков в крови.

**22) Микроскопия желудочного содержимого.** Микроскопическому исследованию подлежат: во-первых, рвотные массы, во-вторых, содержимое желудка натощак и, в-третьих, содержимое желудка после пробного завтрака. Все эти вещества представляют весьма разнообразную картину не только микроскопическую, но даже и макроскопическую, что зависит и от состава принятой пищи, и от продолжительности пребывания ее в желудке, и от характера патологических процессов в желудке. В состав их могут входить: непереваренные пищевые продукты, кровь, желчь, эпителиальные клетки, лейкоциты, микроорганизмы и т. д.

Каплю рвотных масс или содержимого желудка, добытого с помощью желудочного зонда, помещают на предметное стекло, покрывают покровным и рассматривают под микроскопом обычно со средним увеличением при спущенном осветителе.

**а) Крахмальные зерна.** Крахмальные зерна в виде слоистых шаров различной величины и формы, дающих реакцию на иод (синий цвет от прибавления люголевского раствора), встречаются во всяком желудочном содержимом и самостоятельного диагностического значения не имеют (рис. 209, 210 и 211).

**б) Мышечные волокна.** Мышечные волокна имеют характерную поперечную полосатость. Последняя особенно резко бывает выражена при пониженной секреции желудочного сока. Впрочем, иногда и при недостаточной секреции поперечная

полосатость бывает плохо выражена в том случае, если мышечные волокна очень долго лежали в желудке. Наличие мышечных волокон в желудочном содержимом всегда указывает на его замедленное опорожнение.

**в) Жир.** Жир встречается в виде капелек различной величины или в форме кристаллов жирных кислот, растворимых в эфире. Особенно много жира приходится видеть в содержимом желудка после введения молока. Жир, найденный в большом количестве натощак или после не содержащего жиров пробного завтрака, указывает на задержку опорожнения.

**г) Растительные клетки.** Растительные клетки весьма разнообразны; они легко узнаются по особому характерному строению. Диагностическое значение такое же, как и жира, и при тех же условиях.

**д) Эпителий.** Эпителий плоский из полости рта и цилиндрический из желудка, с его слизистой оболочки и желез — см. ниже («Клеточный состав желудочного содержимого»).

Характерный вид имеет эпителий желудка при гиперсекреции: протоплазма переварилась и остались только ядра, которые дольше сопротивляются действию желудочного сока.

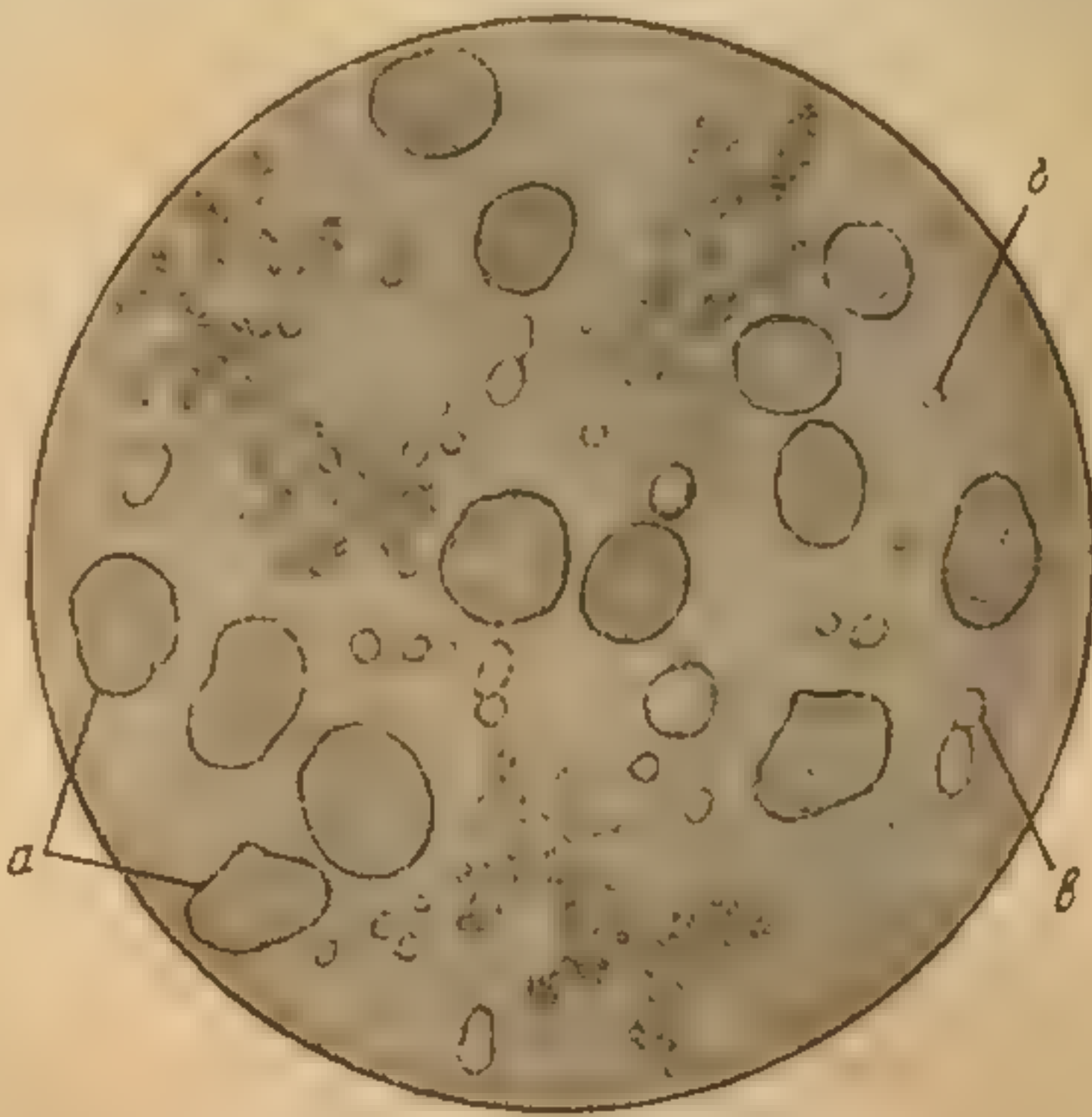


Рис. 210. Нормальное содержимое желудка после пробного завтрака.

а — крахмал; б — капли жира; в — дрожжевые клетки. Увеличение в 350 раз.



Опознавательных признаков для отличия этого эпителия от раковых клеток нет. Между тем найти специфические элементы раковой опухоли весьма важно. За них никоим образом нельзя принимать отдельные эпителиальные клетки, а только гнезда из них — целые частички новообразования. Иногда у раковых больных, чаще в промывной жидкости, удается обнаружить большей или меньшей величины кровяные сгустки, в которых бывают заключены маленькие частички опухоли.

е) Эритроциты. В зависимости от того, долго ли кровь оставалась в желудке и быстро или медленно попадала в него, она имеет вид или сгустков свежей крови, или характерной кофейной гущи. В первом случае под микроскопом видны совсем еще не изменившиеся эритроциты или остатки их в виде бесцветных колец. Во втором случае красных кровяных клеток уже нет, а имеются темные пигментные массы большей

или меньшей величины: оксигемоглобин крови распался, вследствие действия кислоты, на белковое тело (глобулин) и гематин. О диагностическом значении см. «Определение крови».

ж) Лейкоциты. Лейкоциты при обычной микроскопии обнаруживаются в небольшом количестве и притом резко измененные от действия желудочного сока (рис. 212), подобно цилиндрическому эпителию желудка. Особенно характерно в этом отношении исследование содержимого желудка натошак при гиперсекреции. Всегда при этом получается несколько кубических сантиметров очень кислой мутноватой жидкости, и в ней под микроскопом видны характерно сгруппированные клеточные ядра-фигуры, состоящие из

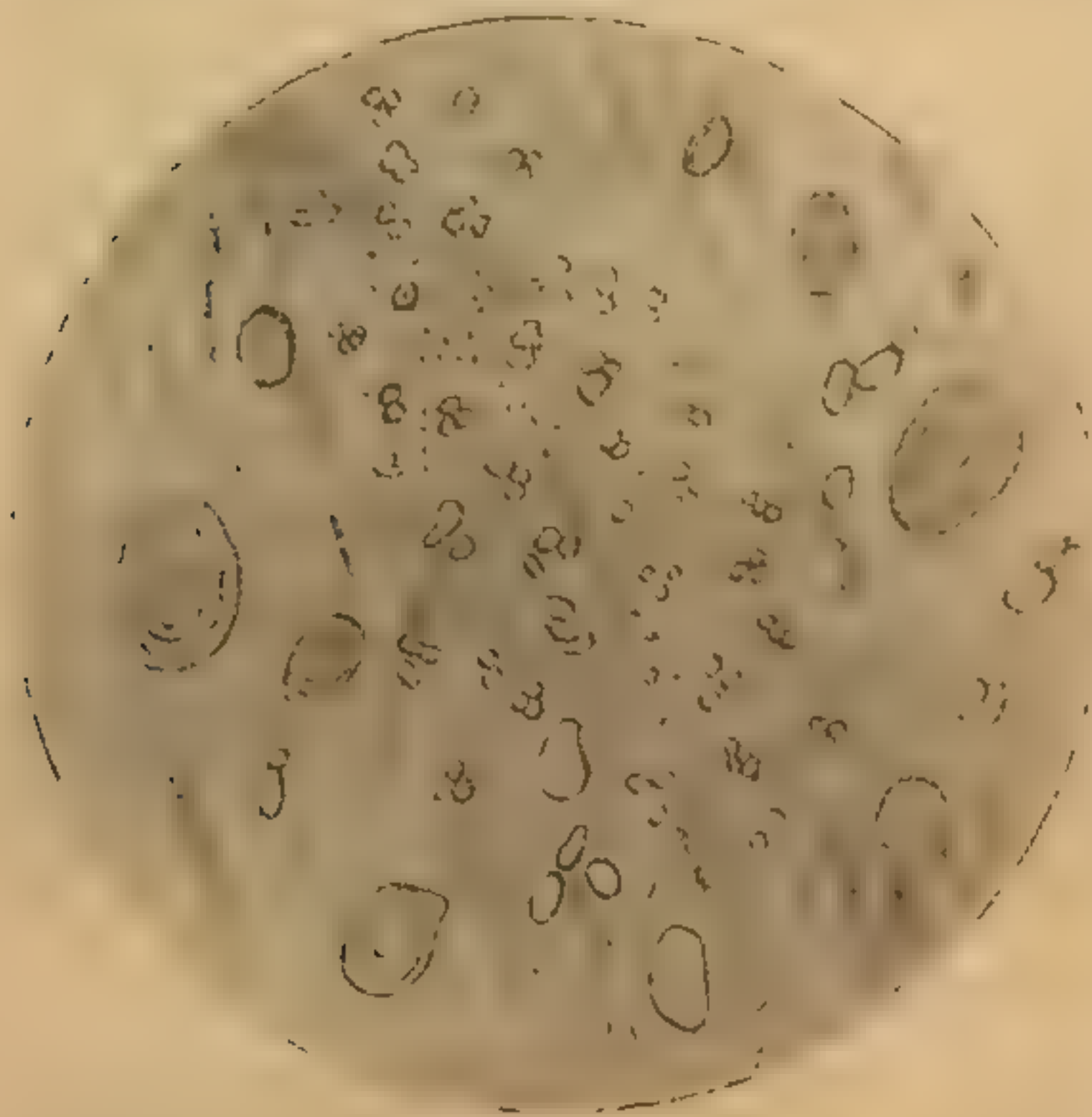


Рис. 212. Слизь в кислом содержимом желудка. Протоплазма заложенных в слизи лейкоцитов переварена, видны только ядра.

2—7 фрагментов; протоплазма же лейкоцитов переварилась желудочным соком. Наряду с фрагментированными ядрами лейкоцитов, встречаются при этом и фрагменты от десквамированного эпителия желудка. В большем количестве встречаются лейкоциты, притом тоже переваренные, в слизи нежелудочного происхождения (проглоченная мокрота).

з) Клеточный состав желудочного содержимого. Клеточному составу желудочного содержимого уделяют большое внимание. Диагностический интерес представляет как общее число клеток, так и их дифференцирование. Изучение клеток производится попутно с многомоментным исследованием: в отдельных порциях, получаемых через десятиминутные промежутки после какого-либо из раздражителей (5% спиртового завтрака или др.), производят подсчет клеток и окраску мазка. Для подсчета клеток 1 см<sup>3</sup> желудочного содержимого, взятого после тщательного взбалтывания во избежание ошибки вследствие оседания клеток, разводят в пробирке 9 см<sup>3</sup> физиологического раствора поваренной соли, кладут каплю в камеру Фукс-Розенталя (см. «Спинномозговая жидкость»), сосчитывают всю сетку и умножают полученное количество на 10<sup>10</sup>/2; результат указывает количество клеток в 1 мм<sup>3</sup> желудочного



сока. Подсчет производится в каждой или в каждой второй порции желудочного содержимого.

Для мазка клетки берут пипеткой со дна пробирки с неразведенным желудочным содержимым, после того как оно стояло 30—45 минут; каплю размазывают на стекле, высушивают на воздухе или в термостате, фиксируют и окрашивают, как мазки крови. При микроскопировании этих препаратов необходимо помнить, что даже при низкой кислотности желудочного содержимого протоплазма клеток подвергается перевариванию, поэтому огромное большинство клеток представлено только в виде голых ядер; только если слущивание желудочного эпителия происходит в очень большом количестве, удастся наблюдать и клетки с сохранившейся протоплазмой.

Общее количество клеток желудочного содержимого при нормальных условиях колеблется от 25 до 500, в большинстве случаев — от 50 до 300 клеток в 1 мм<sup>3</sup>. Главная масса этих клеток — желудочный эпителий (вернее, его ядра). В зависимости от возраста и происхождения этих клеток (главные, обкладочные клетки), они имеют различную величину; большинство их овальной формы и хорошо окрашивается. Если слущивание обильно, встречаются, повидимому, и более молодые клетки с узким ядром, заостренным на концах. Отличие от эпителия полости рта и пищевода не представляет трудности: самые клетки последних значительно большего размера; ядра тоже своей величиной и рыхлым строением отличаются от ядер желудочного эпителия. Несколько труднее отличие ядер желудочного эпителия от лимфоцитов; после просмотра ряда препаратов с сохранившейся протоплазмой накапливается опыт, который позволяет их распознавать.

Сегментированные лейкоциты распознаются без труда даже в резко кислых соках благодаря строению ядра. Кроме того, в осадке, особенно в последних порциях, можно обнаружить гистиоциты; видны тоже только ядра — удлиненные, в середине слегка согнутые или вдавленные; иногда они располагаются кучками или в комочках слизи. Хотя иногда их количество составляет до 5—10% общего числа клеток, все же роль их незначительна, и главными объектами изучения остаются клетки желудочного эпителия и лейкоциты. Для более углубленного изучения регистрируют клетки желудочного эпителия, эпителия полости рта и пищевода, лейкоциты и гистиоциты; для обычных многомоментных исследований достаточно вычисления процентного содержания лейкоцитов. С этой целью считают, избегая клеточных скоплений, от 50 до 100—200 клеток, в зависимости от их общего количества.

При указанном выше количестве клеток от 25—50 до 300—500 лейкоциты у здоровых составляют от 10 до 40, в среднем 25%. Следовательно, около 1/4 клеток желудочного содержимого полагает в него путем диапедеза из капилляров слизистой, остальные появляются в результате слущивания со стенок желудка.

Количество клеток и процентное содержание в них лейкоцитов увеличиваются уже при более сильной рабочей гиперемии; если, например, применен энергичный раздражитель в виде либиховского мясного экстракта, прибавленного к спиртовому раствору, то увеличивается не только кислотность, но и количество клеток, в особенности лейкоцитов; следовательно, увеличение числа клеток до 1000 и лейкоцитов до 50—60% еще нельзя считать признаком поражения желудочной стенки. После впрыскивания атропина наблюдается, наоборот, уменьшение числа клеток, в том числе и лейкоцитов.

Нарастание только числа эпителиальных клеток при нормальном или относительно неповышенном количестве лейкоцитов встречается при по-



вторной рвоте вследствие механического разрыхления эпителия. Наибольшее количество клеток с наивысшим количеством лейкоцитов наблюдается при истинных хронических гастритах (от 300 до 3000 клеток с отдельными подъемами за 6000—8000 и с 65—75% лейкоцитов), острых гастроэнтеритах (почти такие же данные) и гастритах, возникших на почве общих инфекционных болезней (1000—2000 клеток с отдельными подъемами до 3000—6000 и с 25—70% лейкоцитов). При язве желудка количество клеток колеблется от 150 до 500 с отдельными подъемами до 1000, лейкоцитов — от 20 до 40%, т. е. на верхней границе нормальных данных. При язве двенадцатиперстной кишки цифры не выходят за пределы нормальных колебаний. Юношеские формы ахилии дают нормальные, старческие — пониженные цифры. Гистамин при старческой ахилии не стимулирует секреции, но вызывает повышение количества клеток.

и) Растительные паразиты (микроорганизмы). При нормальных условиях в содержимом желудка всегда находятся различные микроорганизмы, но обыкновенно одиночные; они не имеют патологического значения, так как попадают в желудок со слюной или развиваются в уже извлеченном желудочном содержимом при стоянии.

к) Дрожжи. Из дрожжевых грибов встречаются в желудке следующие два вида: 1) *Saccharomyces cerevisiae*, похожие на белые кровяные шарики, сильно преломляющие свет; при прибавлении люголевского раствора они окрашиваются в желтый цвет; в нормальном содержимом желудка они имеются, но в относительно небольшом количестве и поодиночке, а при расширении желудка с атонией стенок и задержкой эвакуации находят целые цепочки этого грибка; 2) чрезвычайно мелкие дрожжевые грибки, расположенные группами наподобие виноградных кистей.

л) Сарцины. Большое значение имеет нахождение сарцин (*Sarcinae ventriculi*). Сарцины по своей форме весьма напоминают перевязанные тюки — по четыре в двух плоскостях, так как растут в трех направлениях, чем легко отличаются от *tetragenus*, дающего рост только в двух направлениях (рис. 213). Сарцины легко найти и в свежих препаратах, еще легче при окрашивании: люголевский растеор окрашивает их в темнобурый цвет до красно-фиолетового; сухие препараты дают красивую картину сарцин при окрашивании насыщенным водным раствором метиленовой синьки.

Сарцины встречаются в большом количестве при резко выраженном расширении желудка и атонии с задержкой опорожнений, где имеются весьма благоприятные условия для их развития — долгое пребывание, застой содержимого желудка, — в общем при тех же условиях, как и палочки молочнокислого брожения (см. ниже), но в отличие от них — в присутствии соляной кислоты.

м) Палочки молочнокислого брожения. Молочнокислые бактерии — довольно грубые, длинные палочки, слегка согнутые под углом (рис. 214). Они встречаются в желудочном содержимом при замедлении эвакуации, вызванном сужением привратника, и при отсутствии соляной кислоты (при ахилии). Так как эти два условия чаще всего встречаются при раке желудка, то нахождение молочнокислых бактерий представляет большой интерес; поэтому при наличии ахилии необходимо внимательно изучать желудочное содержимое под микроскопом, чтобы их обнаружить, тем более что единичные палочки встречаются раньше, чем химическая реакция на молочную кислоту дает положительный результат.

Отрицательный результат исследования не имеет диагностического значения и ни в коем случае не исключает рака.

Кроме перечисленных, в содержимом желудка встречаются (правда, очень редко) еще и другие микроорганизмы. Так, у детей молочница



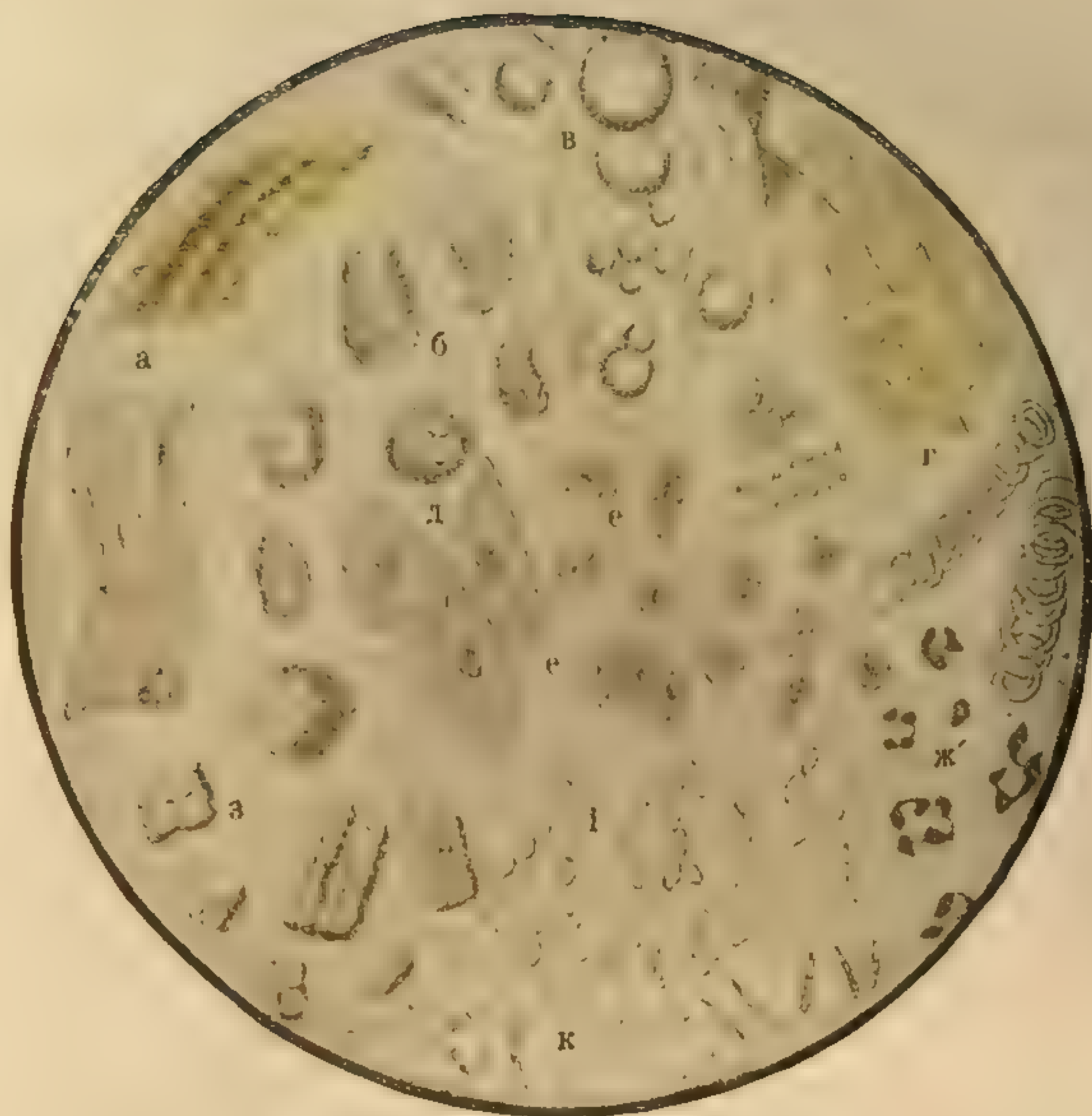


Рис. 209. Общий вид содержимого желудка:

*a* — мышечные волокна; *б* — крахмальные зерна; *в* — капельки жира и жировые иглы; *г* — растительные клетки; *д* — плоский эпителий из полости рта; *е* — цилиндрический эпителий; *ж* — белые кровяные шарики цельные; *жс* — ядра белых кровяных шариков; *з* — *sarcinae ventriculi*; *и* — дрожжевые грибки; *к* — палочки молочнокислого брожения и разные другие палочки и кокки. Увеличение в 480 раз.

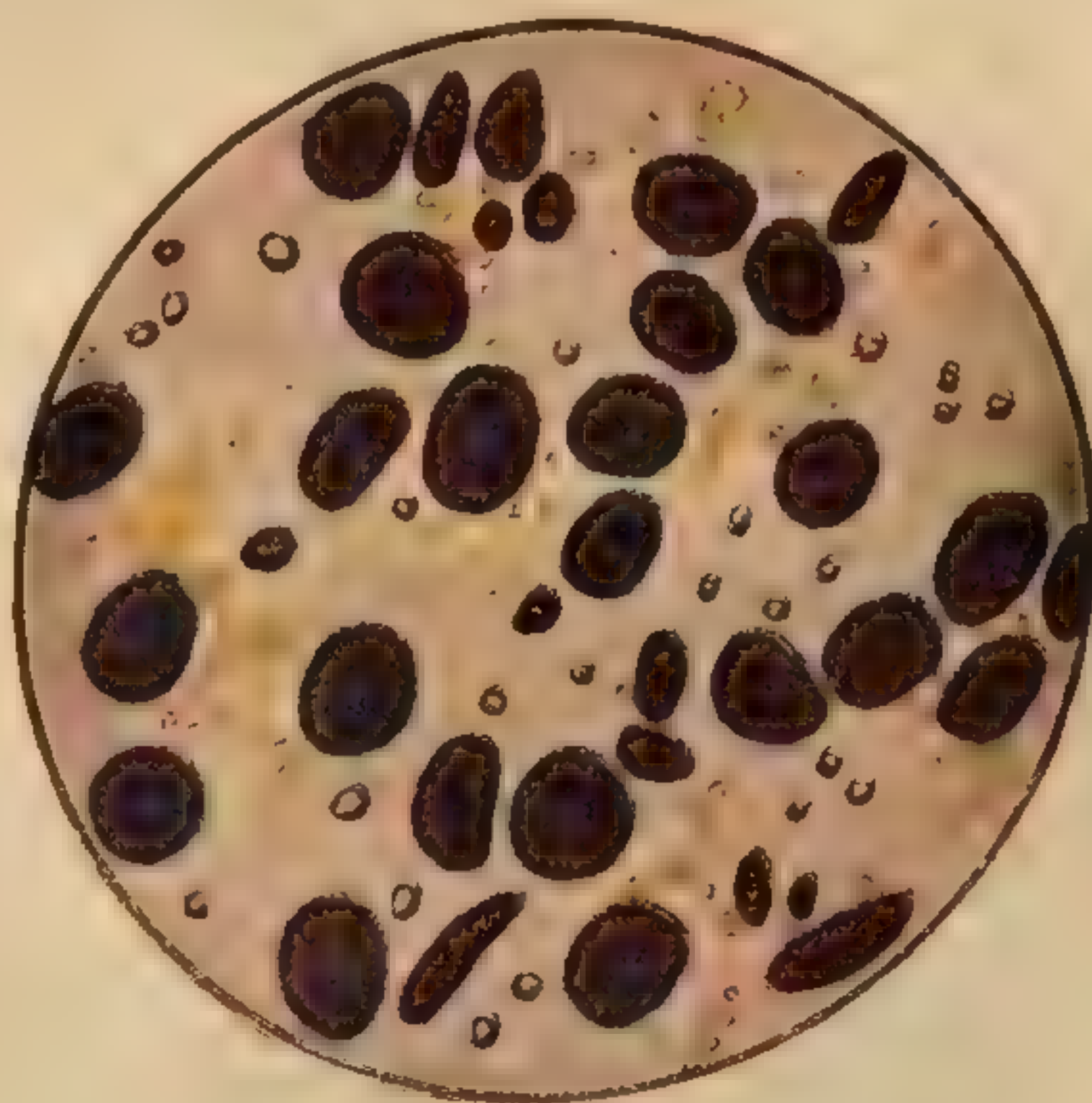


Рис. 211. То же, после прибавления раствора Люголя. Увеличение в 350 раз.



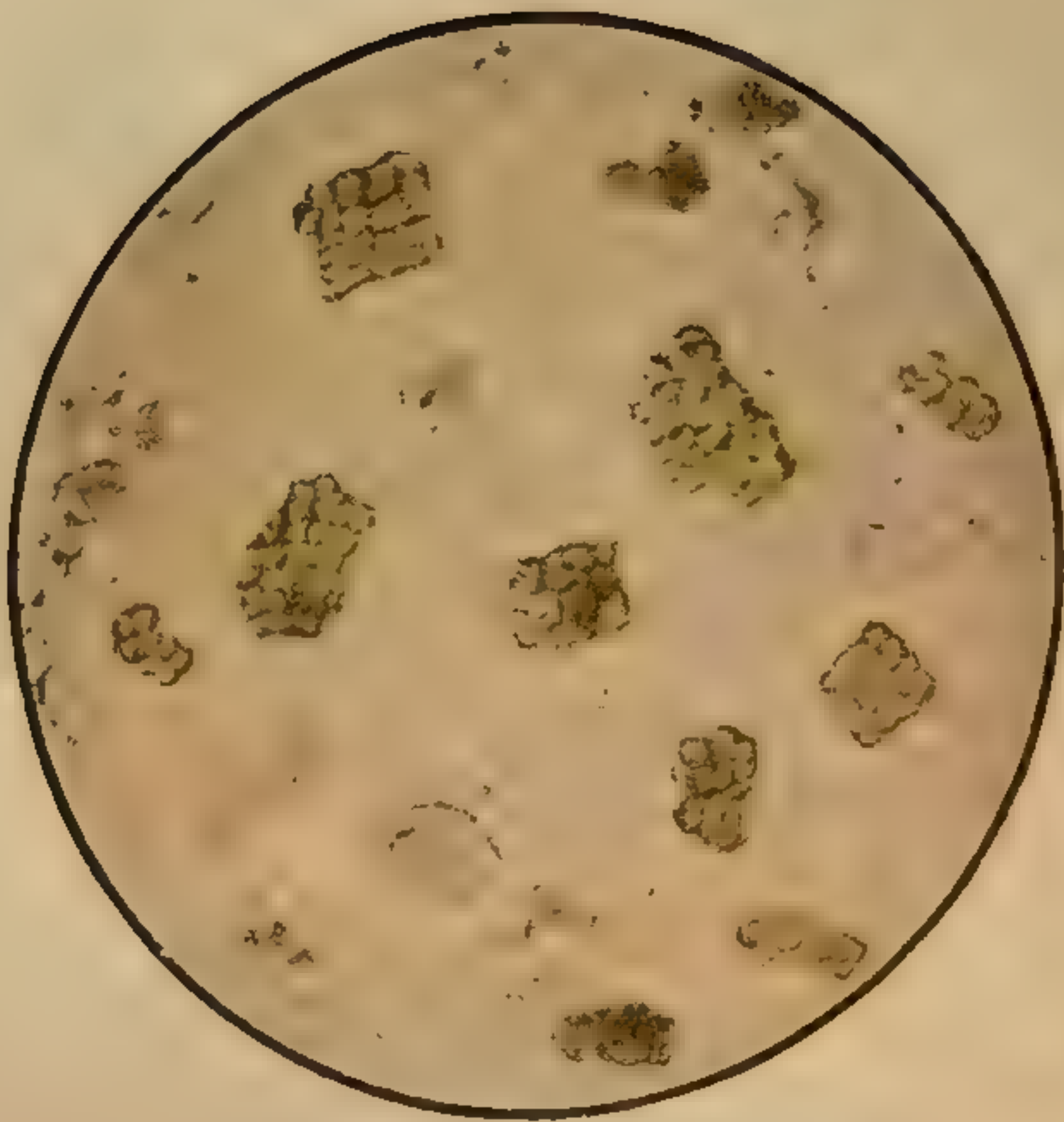


Рис. 213. Сарцина в содержимом желудка.

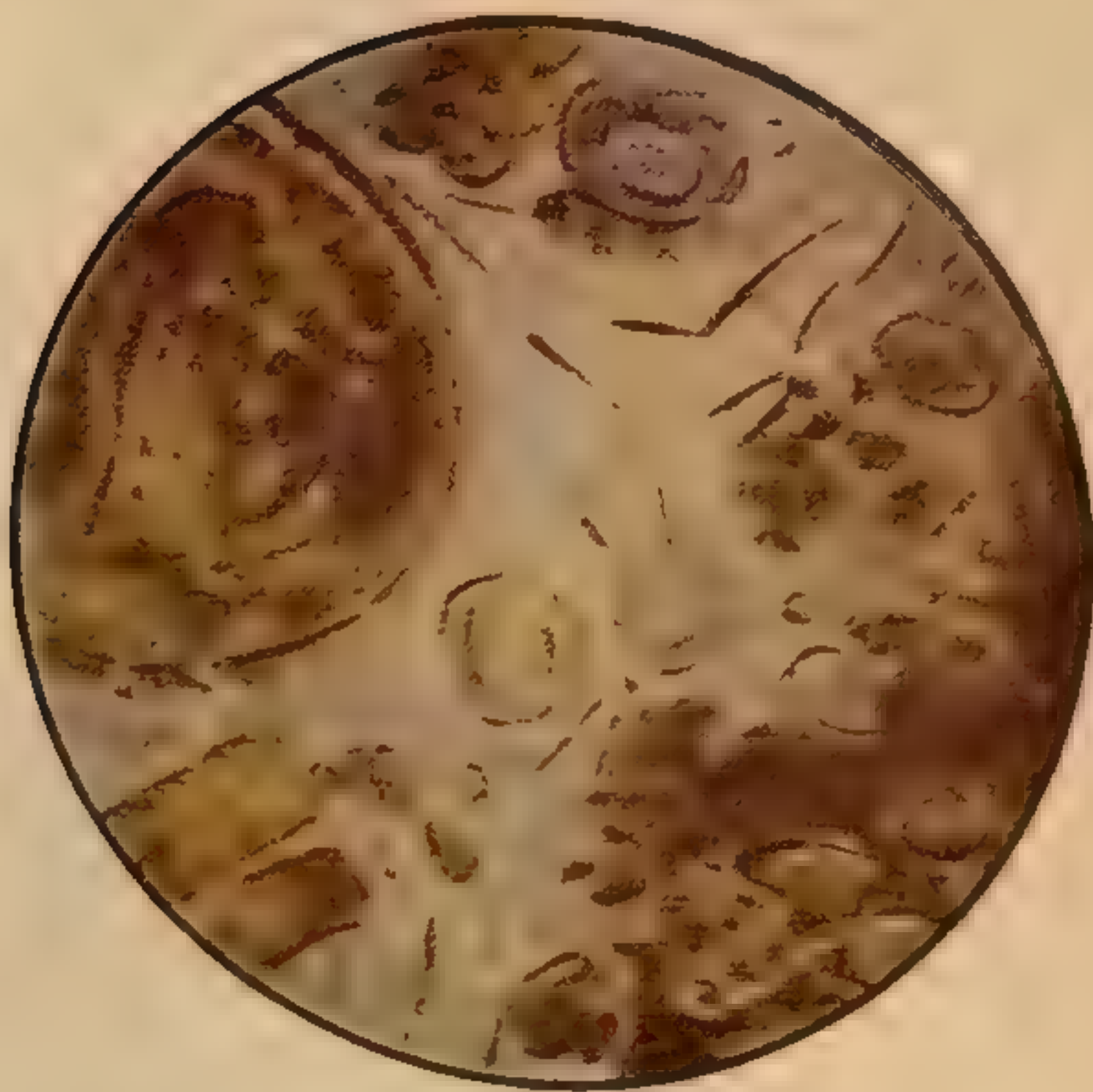


Рис. 214. Микроскопическая картина содержимого желудка при раке после пробного завтрака. Бурые кровяные массы, молочнокислые бациллы Боас-Опплера. Мышечные волокна и картофельная клетка (задержанные с предыдущего дня).

СОДЕРЖИМОЕ  
ПОЛУЧЕН

Содержимое двенадцатиперстной кишки, если предполагать, что оно является суспензией, или же для суспензии. Двенадцатиперстная зона. Двенадцатиперстная трубка, которая сдвигается с давлением большей стенки. Двенадцатиперстная шприца. Двенадцатиперстная для промывания. Двенадцатиперстная многократная расширения в конце имеет. Двенадцатиперстная трубке, от другой (нанесена метка); далее. Цифры. Числовое значение.

Исследования. Можно познать. Техника. Результаты. Спасение. Не следует. Ра.



нередко распространяется с полости рта на пищевод и слизистую оболочку желудка, — тогда в рвотных массах находят нити этого грибка. Точно так же дифтерия иногда распространяется на желудок, и в нем находят тогда специфические палочки Клебс-Леффлера. При заглатывании мокроты, содержащей туберкулезные палочки, последние можно обнаружить в желудочном содержимом. При каловых рвотах всегда выделяется масса всевозможных микроорганизмов; при холерных рвотах — в виде рисового отвара — находили бациллы азиатской холеры. При злокачественном малокровии в желудочном содержимом находили кишечную палочку; у здоровых она принадлежит к нормальному составу бактериальной флоры толстых кишок, но не поднимается выше баугиниевой заслонки, а при злокачественном малокровии она проникает в тонкие кишки, в двенадцатиперстную кишку и, как сказано, даже в желудок.

### ГЛАВА ТРЕТЬЯ

## СОДЕРЖИМОЕ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ, ПОЛУЧЕННОЕ ПОСРЕДСТВОМ ЗОНДА

### ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Содержимое двенадцатиперстной кишки добывают для исследования желчи, если предполагается заболевание желчных путей или желчного пузыря, или же для суждения о работе поджелудочной железы.

Дуоденальный зонд состоит из мягкой, тонкой, 3—5 мм в диаметре, резиновой трубочки, в то же время достаточно резистентной, чтобы сопротивляться сдавлению, оказываемому сфинктером входа в желудок и в еще большей степени привратником, и в особенности присасывающему действию шприца. Длина трубки около 140—150 см; на конце, предназначенном для проглатывания, прикреплена маленькая серебряная олива, снабженная многочисленными мелкими отверстиями. Олива не должна иметь расширения в начале, иначе ее неудобно вытаскивать обратно. На другом конце имеется приспособление для соединения со шприцем. На резиновой трубке, начиная с оливы, нанесены метки на расстоянии 10 см одна от другой (10, 20, 30 и т. д.), или же на расстоянии 45 см от оливы нанесена метка I (вход в желудок), на расстоянии 56 см — метка II (привратник); далее имеются еще две метки — III и IV — на 70 и 80 см от оливы. Цифры эти имеют скорее теоретическое, чем действительно практическое значение (рис. 215). Для детей достаточно нелатоновского катетера.

### ТЕХНИКА ВВЕДЕНИЯ ЗОНДА

Исследование производится натощак. Если больной страдает от жажды, то можно позволить ему выпить несколько глотков воды, но желательно не позже чем за 1—2 часа до начала исследования.

Техника введения зонда довольно проста. Большое значение имеет спокойствие больного. Чаще всего причиной неудачи при введении зонда является спазм привратника, легко поддающегося эмоциональным влияниям. Полезно отвлекать внимание больного разговором или легким чтением. Не следует оставлять больного одного в комнате, так как, оставшись один, он при малейшем позыве на рвоту легко поддается соблазну вытянуть зонд обратно.



Зонд с оливой кипятят в воде; можно прибавить несколько капель мятной настойки, чтобы заглушить вкус резины. Больной в это время сидит на стуле или лежит с приподнятой верхней половиной туловища. Когда вода достаточно остынет, дают больному конец зонда с оливой и предлагают ему спокойно дышать с закрытым ртом и в то же время постепенно продвигать оливу к корню языка. Когда олива примет это положение, больной должен сделать несколько глотательных движений; олива при этом обычно проскальзывает в пищевод. В этот момент часто появляется позыв к рвоте, который, однако, можно преодолеть несколькими глубокими вдохами с открытым ртом. Предупреждают больного, чтобы он проглатывал слюну, а не выплевывал ее. В редких случаях предпочитают вводить зонд при помощи проведенного в него мандрена — тонкой, гибкой, не слишком мягкой металлической проволоочки. Пройдя

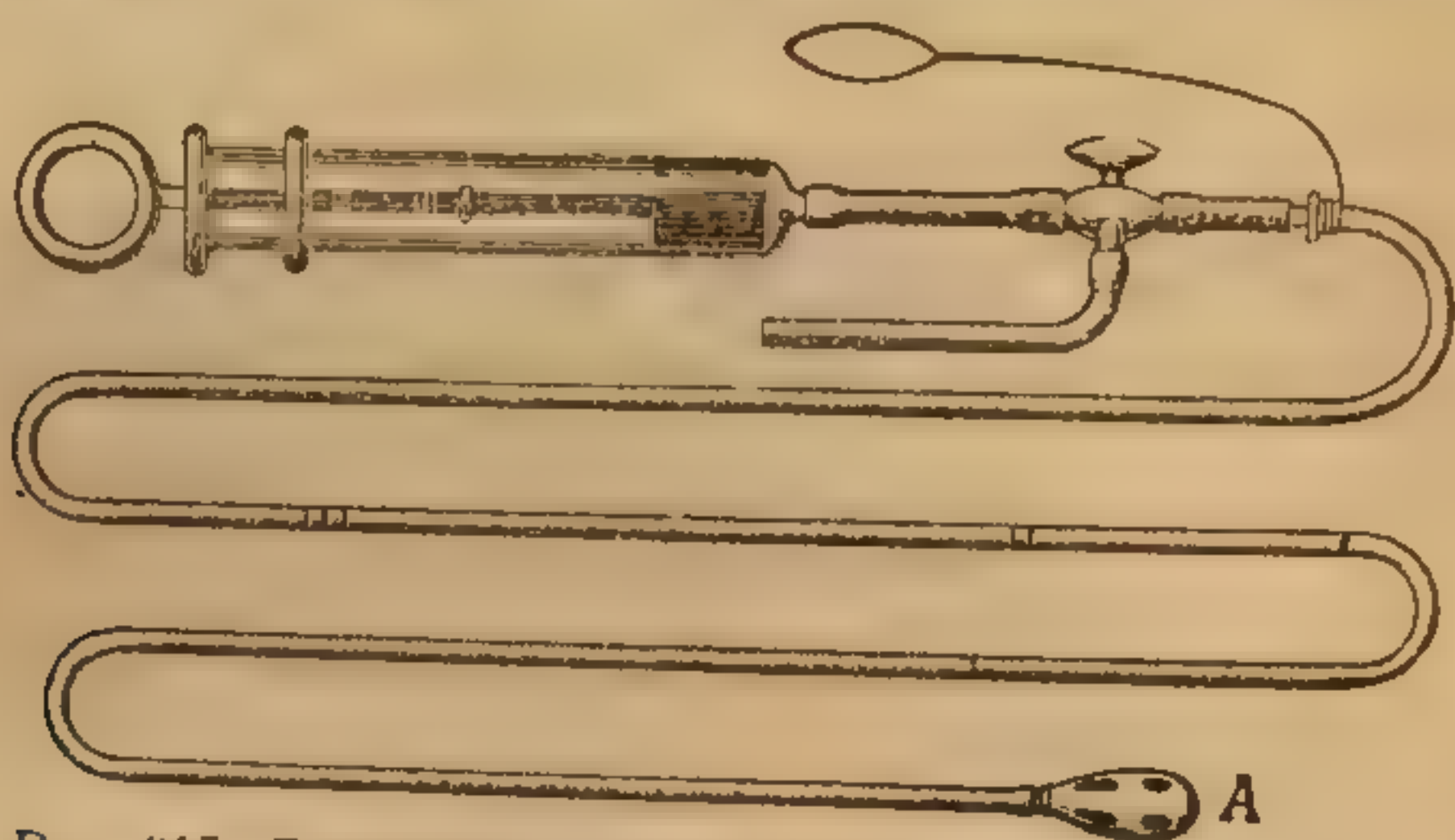


Рис. 215. Дуоденальный зонд. А — олива; наиболее целесообразная ее форма без резкого расширения в начальной части, затрудняющего обратное извлечение.

через зев, олива и зонд спускаются самостоятельно, увлекаемые перистальтическими движениями пищевода. Можно предложить больному помочь этому продвижению несколькими глотательными движениями, но это проглатывание зонда должно производиться очень медленно и постепенно, с большими перерывами, так как иначе конец зонда может завернуться и не пройти в желудок, а затем в двенадцатиперстную кишку. Во время прохождения зонда по пищеводу рекомендуется положить больного на правый бок с приподнятой верхней половиной туловища.

При нормальных условиях олива без труда проходит через вход в желудок; обычно на это требуется 5—20 минут. У края зубов при этом теоретически должна быть достигнута метка — 60 см; если в это время аспирировать шприцем, укрепленным на наружном конце зонда, то получается кислая мутная жидкость — желудочное содержимое. Надо помнить, однако, что у лиц, страдающих ахилией, содержимое желудка может и не иметь кислой реакции; примесь желчи (желтый цвет жидкости) отнюдь не исключает того, что жидкость получена из полости желудка. Если жидкость не удастся получить, то, значит, зонд обвился петлю при прохождении через пищевод; зонд слегка вытягивают обратно и опять дают больному выпить несколько глотков воды, чтобы олива проскользнула в желудок. Подробнее об определении места нахождения оливы см. ниже. Предлагают продолжать глотать до метки 70 см, после чего выжидают прохождения оливы в двенадцатиперстную кишку; обычно оно продолжается около 1½ часов, редко меньше, очень часто — больше. Если олива не прошла в двенадца-



типерстную кишку, то она, возможно, образовала петлю в желудке. Вытягивают небольшой кусок зонда обратно и предлагают больному вновь осторожно заглатывать его. Если имеется опущение желудка, то верхнюю половину туловища приподнимают выше. Иногда помогают введение через зонд 20—30 см<sup>3</sup> слегка подкисленной соляной кислотой воды. Если имеется спазм привратника, то его иногда удается преодолеть, вводя шприцем через зонд 30—40 см<sup>3</sup> растительного масла; эффект получается спустя 20—25 минут; вводят также немного взболтанной в воде жженной магнезии или двууглекислой соды. Все эти мероприятия, однако, имеют ту отрицательную сторону, что подлежащее исследованию содержимое с введенными веществами смешивается. Иногда помогают легкий массаж живота, перемена положения (больного кладут на правый бок или на живот), похаживание по комнате; в упорных случаях впрыскивают под кожу атропин. Непреодолимые затруднения встречаются почти исключительно при повышенной желудочной кислотности. Если через 3 часа после начала исследования не удалось получить желчь, следует признать зондирование неудавшимся и извлечь зонд обратно.

Когда олива пройдет через привратник, больной должен воздержаться от резких движений, так как она легко может проскользнуть обратно в желудок.

Проверить положение оливы по меткам на резине невозможно, так как очень редко бывает, чтобы зонд не образовал нигде складок, особенно в желудке. Поэтому либо больной заглатывает больше, чем нужно согласно меткам, либо метка на месте, но олива не находится в двенадцатиперстной кишке.

Лучше всего для проверки положения оливы просветить больного рентгеновыми лучами. Если этой возможности нет, то вводят через зонд или дают больному выпить немного молока и тотчас извлекают его шприцем. Если олива лежит в желудке, то извлекается молоко; если же она в двенадцатиперстной кишке — молока обратно не получают, так как оно задерживается только в желудке. Иногда молоко получается обратно в очень малом количестве и окрашено желчью. Можно также вдуть шприцем воздух: больной ощущает поступление воздуха в желудок и может его локализовать, тогда как в двенадцатиперстной или тонкой кишке воздух не вызывает никаких ощущений. Наконец, уже простое вытягивание поршня из шприца может указать, где находится олива: если оно удается легко и шприц наполняется жидкостью (определенных свойств) или воздухом, олива в желудке; если же она по ту сторону привратника, резина спадается и только при медленном аспирировании, иногда лишь спустя несколько минут, появляется характерный дуоденальный сок.

Необходимо помнить, что иногда олива проскальзывает слишком далеко — до нижнего отрезка двенадцатиперстной кишки; в этом случае насасывание тоже не удастся. Такое положение оливы можно распознать только при просвечивании.

Получаемая посредством дуоденального зонда жидкость представляет собой смесь, состоящую из желчи, отделяемого поджелудочной железой и поступающей из желудка смеси из желудочного сока и введенной жидкости; все эти субстанции соединяются в случайных пропорциях, весьма неодинаковых в различное время и зависящих от не поддающихся учету условий. Одновременное присутствие нескольких ферментов и их активаторов отражается различным образом на действии каждого из них в отдельности, ослабляя одни и усиливая другой. Таким образом, для какого-либо количественного учета эта жидкость совершенно не пригодна, и все количественные исследования, как бы точны и усовершенствованы



они сами по себе ни были, могут дать лишь приблизительное представление о свойствах желчи или о функциональных способностях поджелудочной железы.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЖЕЛЧИ

1) **Общие свойства.** Когда олива проскальзывает в просвет двенадцатиперстной кишки, то жидкость, содержащая желчь, начинает по каплям вытекать из наружного отверстия зонда; вытекание происходит не равномерно, а с более или менее продолжительными перерывами. Так как состав жидкости изменчив, то готовят ряд пробирок и собирают понемногу в каждую. Первые порции обычно золотистожелтого цвета, прозрачны и лишь слегка вязкой консистенции; примесь желудочного содержимого может вызвать помутнение. Полагают, что эта желчь происходит из желчного протока; ее обозначают обычно как желчь А.

Если вытекающая жидкость не имеет указанных свойств, а мутна, то приходится решать вопрос, получено ли дуоденальное содержимое с примесью желудочного или же олива проскользнула обратно в желудок и жидкость представляет собой желудочное содержимое с примесью желчи. Руководствуются следующими соображениями: окраска содержимого желудка все же никогда не достигает золотистожелтого цвета и по мере вытекания постепенно становится бледнее; реакция его кислая или нейтральная; муть легкая и равномерная; дуоденальное же содержимое окрашено более интенсивно, сильно мутные порции сменяются прозрачными, причем прозрачная жидкость падает на дно пробирки, реакция щелочная.

Чтобы получить желчь из желчного пузыря (желчь В), вызывают рефлекторное опорожнение его.

Чаще всего прибегают к введению через зонд 20—30 см<sup>3</sup> 30% раствора сернокислой магнезии. С той же целью предложено вводить через дуоденальный зонд 30 см<sup>3</sup> 10% раствора пептона или 20 см<sup>3</sup> теплого оливкового или подсолнечного масла; и в том, и в другом случае спустя 5—10 минут начинает вытекать темнооливковая вязкая пузырьная желчь. Самый сильный эффект получается после впрыскивания под кожу 2 см<sup>3</sup> питуитрина; спустя 25 минут появляется концентрированная пузырьная желчь. Так же действуют 0,5 см<sup>3</sup> (1 мг) гистамина.

Спустя 5—15 минут после введения магнезии появляется светложелтая, несколько вязкая жидкость из крупных желчных ходов; общее количество ее 20—30 см<sup>3</sup>. Она имеет то же значение, что и желчь А. Несколько позднее, через 15—30 минут, появляется более темная и более вязкая желчь В; обычно ее бывает 30—40 см<sup>3</sup>. Если она выделяется с перерывами, то во время этих перерывов выделяется более светлая желчь — смесь пузырьной желчи с печеночной или с дуоденальным содержимым. Пузырная желчь обычно скопляется в нижней части пробирки; для исследования стараются взять ее оттуда или же, если отделить ее не удастся, наоборот, тщательно перемешивают все содержимое пробирки. Иногда после выделения нейтральной прозрачной желчи вдруг появляется мутная и резко кислая желчь, что объясняется примесью желудочного содержимого, которое осаждает желчные соли. Эти порции желчи собирают отдельно, чтобы они не мешали исследованию пузырьной желчи.

Если не удастся после введения магнезии получить желчь, то вводят ее еще один и даже два раза с промежутками в 15—20 минут. Причиной более сильного раздражения; часто после подобного повторного введения



магнезии наблюдается усиленное выделение желчи В. Иногда, наоборот, желчь В появляется еще до введения магнезии, что объясняется повышенной раздражимостью пузыря, который опорожняется уже в ответ на прикосновение оливы к слизистой двенадцатиперстной кишки.

Самый факт появления пузырной желчи доказывает, что пузырь функционирует нормально; если в пузыре имеется воспалительный процесс, то желчь В не появляется. Если результат совершенно отрицательный, т. е. если за все время исследования не удастся получить ни одной капли темной желчи, притом несмотря на повторное введение магнезии на протяжении того же исследования и повторного зондирования через 5—6 дней, то это означает заболевание пузыря или желчного протока, чаще всего холецистит или же перихолецистит и перидуоденит. И то, и другое заболевание может давать и не совсем отрицательную реакцию. В ряде случаев при дренаже желчь В выделяется, но лишь в количестве нескольких капель. Это указывает или на наличие перихолецистита, создающего препятствия для сокращения желчного пузыря (в этих случаях больной во время исследования будет ощущать боль), или на уменьшение емкости пузыря, вследствие заполнения его камнями или атрофии его стенок. Иногда желчь В выделяется в достаточном количестве, но мало отличается по цвету от желчи А. В этих случаях можно предположить, что пузырь и проток свободны от камней, но утратили способность сгущать желчь вследствие хронического холецистита. Наконец, возможен и обратный случай: выделение очень темной, почти черной желчи, обычно в очень большом количестве, причем выделяется она с перерывами. Подобное изменение указывает на наличие препятствия к опорожнению пузыря, ведущего к застою желчи. Препятствие это неполное, поскольку введением магнезии его можно преодолеть, но все же пузырь после приема пищи не опорожняется, как в норме (стаз пузыря, холецистоатония).

Значительное ослабление тени или даже отсутствие ее при холецистографии в тех случаях, когда желчь В появляется нормально и обладает нормальными свойствами, характерно для болезней печени — ослаблено извлечение краски из крови.

Боли, тошнота, рвота, общее недомогание после введения магнезии в значительном большинстве случаев встречаются при наличии желчных камней, в особенности после приступа, несколько реже — при холецистите. Необходимо помнить, однако, что наличие таких расстройств не может служить надежным признаком патологического процесса в печени или желчных путях — они наблюдаются и у 16% здоровых.

Иногда, даже если желчный пузырь был удален оперативным путем и после удаления его прошло довольно много времени, описанные выше мероприятия все же вызывают появление небольшого количества концентрированной желчи, происхождение которой еще не вполне выяснено.

После опорожнения желчного пузыря начинается вытекание желчи, имеющей диагностического значения. Светлая и прозрачная желчь С, не имеющая диагностического значения.

Перед тем как вынуть зонд, впрыскивают в него 20—30 см<sup>3</sup> воды, чтобы изгнать из него желчь, и быстро извлекают его, предлагая больному сделать несколько рвотных движений.

В полученных таким путем порциях можно произвести ряд исследований, помня, однако, приведенные выше соображения об условном значении всех получаемых при этом числовых величин.

а) Прозрачность. Желчь прозрачна; муть обусловливается примесью желудочного содержимого (в кислой среде выпадают желчные кислоты), что препятствует дальнейшему исследованию желчи. Муть



вследствие примеси гноя наблюдается редко. Присутствие отдельных хлопьев не имеет существенного значения; появление их может быть связано с воспалительным состоянием двенадцатиперстной кишки или желчного пузыря, но может обуславливаться и раздражением магнезией. При раздражении пептоном, если нет воспалительных явлений, они не обнаруживаются.

б) Цвет. Желчь А и С золотистожелтого, желчь В—темнозеленого или коричневого цвета. Очень темное, почти черное окрашивание пузырной желчи встречается при стазе. Желчь зеленого или зеленоватого цвета, но прозрачная, указывает на наличие стаза или же инфекции. Зеленоватая и в то же время мутная желчь появляется в случае примеси желудочного содержимого и не имеет, следовательно, никакого патологического значения.

в) Реакция. рН всех трех видов нормальной желчи обычно 6,6—7,6; при инфекциях желчного пузыря реакция желчи В становится кислой (рН=4,0—4,8), что объясняется присутствием органических кислот бактериального происхождения.

г) Количество. Количество желчи в среднем соответствует 1 см<sup>3</sup> в минуту, т. е. 60—70 см<sup>3</sup> в час. Физиологически выделение желчи составляет около 50 см<sup>3</sup> в час, но присутствие оливы, повидимому, несколько усиливает секрецию.

Увеличение количества желчи иногда наблюдается при гемолитической желтухе, язве двенадцатиперстной кишки и диабете; уменьшение—при закупорке желчного протока, катарральной желтухе и ангиохолите.

д) Удельный вес желчи А и С обычно колеблется в пределах 1 008—1 012; удельный вес пузырной желчи (В) выше—1 026—1 032.

2) Белок. Нормальная дуоденальная желчь не содержит белка, свертывающегося при кипячении, а только осаждающийся уксусной кислотой муцин. При воспалительных заболеваниях желчных путей и диффузных поражениях печени в дуоденальной желчи может появиться белок. Его определяют следующим образом: прибавляют по каплям 0,4% уксусной кислоты до почти нейтральной на лакмус реакции (кислая реакция затемняет дальнейшее исследование, так как наступает помутнение вследствие появления хлопьев желчных кислот), прибавляют немного хлористого натрия и кипятят: если при этом образуются хлопья, можно говорить об альбуминохолии. Большого диагностического значения она не имеет, так как появление ее даже при тяжелых диффузных заболеваниях печени наблюдается нерегулярно.

3) Билирубин. Билирубин определяют по ван ден Бергу (см. «Билирубин в крови», стр. 514). Желчь приходится при этом разбавлять в 10 раз и больше—до лимонножелтого цвета, иначе после прибавления диазореактива получается жидкость, окрашенная более интенсивно, чем клин-колориметра. Нередко окраска получается иного оттенка, чем жидкость кислоты, а недостаточно розовый, желтоватый—небольшим избытком щелочи. В первом случае воду, которой разбавляют желчь, слегка подщелачивают аммиаком (большой избыток щелочи также вызывает усиление), во втором—к ней прибавляют немного соляной кислоты. Если предварительное разведение оказалось недостаточным, то можно спасти исследование, разводя уже готовую для колориметрирования жидкость спиртом в 2—3 раза, и т. д. Порции А и С содержат до 25 мг% билирубина, порция В—значительно больше. Концентрация в пузырной желчи по сравнению с порцией А повышена в среднем в 18 раз, но и у здоровых наблюдается сгущение в 90 раз и более, а при патологических условиях описаны сгущения до 150—300 раз.



Количество билирубина колеблется в очень больших пределах: оно уменьшается почти до исчезновения при желтухе на почве закупорки галической желтухе, пароксизмальной гемоглобинурии, злокачественном малокровии. При суждении о количестве билирубина надо принимать во внимание и общее количество выделяющейся желчи: желчь может быть интенсивно окрашена, но количество ее при этом резко уменьшено.

4) **Уробилин.** В нормальной дуоденальной желчи уробилина совсем не содержится. При инфекционных заболеваниях желчных путей, гепато-целлюлярных желтухах, циррозе печени, после приступов желчной колики и в особенности при повышенном распаде эритроцитов наблюдается повышенное выделение уробилина или уробилиногена. Их открывают так же, как в моче. Соляная кислота реактива осаждает желчные кислоты в виде хлопьев, которые нужно отфильтровать.

5) **Желчные кислоты.** Желчные кислоты содержатся в пузырной желчи в большем количестве, чем в порциях А и С. Присутствие их определяют сталагмометрическим способом: в стеклянную трубку с расширением (лучше пользоваться специальными сталагмометрами или пипеткой Рона), укрепленную в штативе строго вертикально, насаживают через резиновую трубку, насаженную на верхний конец, испытуемую жидкость до метки, находящейся выше расширения, и затем дают жидкости медленно вытекать по каплям, причем скорость вытекания регулируют сдавливанием резиновой трубки (см. стр. 233 «Определение липазы в крови»). Подсчитывают число капель и сравнивают его с количеством капель воды, вытекающей из той же пипетки при тех же условиях. В среднем капель получается вдвое больше. Сгущение в пузырной желчи в отношении желчных кислот никогда не достигает той степени, как для билирубина.

6) **Холестерин.** Холестерин определяют так же, как в крови (стр. 214). Количество его в желчи А колеблется от следов до 250, в среднем 20 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, в пузырной желчи — от 70 до 450, в среднем 200 мг<sup>0</sup>/<sub>0</sub>; при патологических условиях количество холестерина в желчи В не выше, чем в желчи А, или даже меньше.

Стойкое уменьшение количества желчных пигментов, желчных кислот и холестерина наблюдается при частичном застое желчи и при так называемой катаральной желтухе. По окончании заболевания иногда находят очень большое количество этих субстанций, в особенности уробилина и уробилиногена.

При очаговых поражениях печени и циррозах количественных изменений обычно не наблюдается; некоторыми авторами описано увеличение количества билирубина и уробилина. При гемолитической желтухе отмечено увеличение количества билирубина (вследствие повышенного распада эритроцитов) и уробилиногена (вследствие обильного поступления его из кишечника). Количество холестерина тоже увеличено, несмотря на отсутствие гиперхолестеринемии, вследствие того, что холестерин, освобождающийся при распаде красных кровяных телец, выделяется с желчью. Количество желчных кислот не изменено.

7) **Кровь.** Определение крови производится так же, как в каловых массах, и может представлять диагностический интерес.

8) **Микроскопия желчи.** Трудность микроскопического изучения форменных элементов желчи обуславливается присутствием в ней большого количества пищеварительных ферментов, которые быстро переваривают клетки; поэтому рекомендуется смешать содержимое пробирки с  $\frac{1}{3}$  по объему 10% формалина. Смесь нагревают до точки, близкой к кипению,



сильно центрифугируют в течение 10 минут и изучают осадок с иммерсионной системой.

а) Клетки. При нормальных условиях дуоденальное содержимое даже после раздражения магниезией не содержит почти никаких форменных элементов; лишь изредка попадаются эпителиальные клетки и 1—2 моно- или полинуклеарных лейкоцита на 15—20 полей зрения. В патологических случаях выделяется мутная желчь, которую необходимо изучать под микроскопом, так как по внешнему виду нельзя судить о характере этой муты: обильный осадок в некоторых случаях содержит очень много лейкоцитов, а в других случаях совсем их не содержит; то же относится и к эпителиальным клеткам. Эпителий полости рта, зева и пищевода в виде больших полигональных клеток распознается легко; труднее отличить цилиндрический эпителий. Клетки часто дегенерированы, вакуолизи-



Рис. 216. Вегетативная форма ламблии из дуоденального сока.

рованы, содержат включения; протоплазма зерниста. Лейкоциты иногда трудно дифференцировать по видам. Присутствие большого количества полинуклеаров говорит за наличие воспалительного или даже гнойного процесса в желчном пузыре. Появление эритроцитов в единичном количестве может быть вызвано травмой при зондировании и поэтому не имеет диагностического значения. Слизь в большом количестве имеется и при нормальных условиях.

б) Кристаллы. Увеличение количества кристаллов холестерина и билирубината кальция может иметь большое диагностическое значение. Кристаллы холестерина обнаружить обычно легко по их характерной форме. Билирубинат кальция обра-

зует мелкий песок из блестящих от золотистого до кирпичнокоричневого цвета зерен неправильной формы, которые приходится иногда очень долго искать. Кристаллы можно обнаружить в половине случаев каменной болезни. Особенно большое диагностическое значение имеет нахождение обоих видов кристаллов совместно с лейкоцитами, даже если нет истин-

ной желчи В.

в) Бактерии. Для бактериоскопического и бактериологического исследования желчи необходимо производить зондирование в стерильных условиях. Большое количество бактерий среди лейкоцитов может иметь диагностическое значение, даже если стерильность не была соблюдена. Чаще встречаются кишечная палочка, стафилококк, стрептококк, энтерококк. Необходимо иметь в виду, что самая желчь может быть стерильной, тогда как посев кусочка стенки или слизи дает культуру стафилококка или стрептококка. Иногда же желчь содержит кокки, но не те, которые имеются в стенке, поэтому вакцинация бактериями, выделенными из желчи, часто остается бесполезной.

г) Животные паразиты. Из животных паразитов в дуоденальном содержимом удается иногда найти ламблию (*Lambia intestinalis*) (рис. 216).



Это небольшой паразит, величиной немного больше лейкоцита; один конец его закруглен, другой заострен (форма брюквы). Как редкая находка описаны крючья эхинококка при эхинококке печени. При гепатитах амёбного происхождения находили амёбы или их цисты (см. «Каловые массы»).

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПАНКРЕАТИЧЕСКОГО СОКА

Исследование дуоденального содержимого с целью оценки функции поджелудочной железы сводится главным образом к определению ферментов. Отделяемое поджелудочной железы содержит трипсин, диастазу и липазу, но выделение этих ферментов в кишечник происходит не постоянно, а периодически и вне процесса пищеварения может прекращаться на 15—30—45 минут. Мясо, хлеб и молоко вызывают уже спустя  $1\frac{1}{2}$ — $3\frac{1}{2}$  минуты обильное отделение панкреатического сока, продолжающееся несколько часов.

При исследовании функции поджелудочной железы иногда пользуются молоком; однако чаще для получения секрета применяют другие раздражители. В настоящее время наибольшее распространение, повидимому, получило применение эфира. После того как проверено положение оливы в двенадцатиперстной кишке или получена порция жидкости, характерная для желчи, вводят через зонд 3—4 см<sup>3</sup> эфира. Если больной переносит зондирование безболезненно, то целесообразно предварительно ввести сернокислую магнезию, чтобы извлечь по возможности всю желчь и получить в дальнейшем панкреатический сок, уже свободный от желчи. На практике достаточно однократного введения магнезии и выкачивания желчи в течение 30 минут. Если после этого ввести эфир, то полученная жидкость обычно уже не содержит желчи, а смешана только с небольшим количеством желудочного сока.

Эфир следует впрыскивать медленно: на введение 4 см<sup>3</sup> следует потратить 5 минут; в противном случае будет вызвана бурная реакция и олива будет выброшена из двенадцатиперстной кишки. Иногда эфир вызывает обильное слюноотделение, поэтому необходимо предупредить больного, чтобы он не проглатывал слюну. Иногда получается резкое покраснение лица, отмечается чувство жжения в подложечной области, тошнота, тахикардия. Эти ощущения связаны с повышенной чувствительностью вегетативной нервной системы.

Нередко в дуоденальной жидкости содержатся кровяные жилки как результат гиперемизирующего действия эфира. Само по себе это не имеет значения, но делает эту пробу противопоказанной при наличии язвы двенадцатиперстной кишки.

После введения эфира выжидают 5—20 минут; поршень шприца должен быть вдвинут до конца, чтобы предупредить обратное поступление эфира. Первые порции дуоденальной жидкости, смешанные с эфиром, отбрасывают.

**1) Количество жидкости.** Количество жидкости, полученной после введения эфира, колеблется в больших пределах и у здоровых, поэтому какие-либо выводы можно делать только при резком уменьшении или отсутствии секреции. Уменьшение отмечается при холецистите и желчных камнях, а также при сахарной болезни. Отсутствие поджелудочной секреции служит признаком закупорки прохода камнем или новообразованием головки поджелудочной железы или же диффузного склероза, или патологического процесса, разрушившего железу (кисты, кровоизлияния).

Функция поджелудочной железы характеризуется выделением ферментов. Однако количественное определение их дает только прибли-



тельные результаты вследствие того, что панкреатический сок смешан в неопределимых и постоянно изменяющихся соотношениях с соком двенадцатиперстной кишки и желудка. Наиболее характерным для поджелудочной железы ферментом является липаза. Остальные ферменты — протеолитический и амилолитический — содержатся и в желудочном соке, и в слюне, фермент которой реактивируется при реакции, свойственной дуоденальному соку.

2) **Определение липазы.** а) **Способ первый.** Свежевзятый дуоденальный сок в количестве  $2\text{ см}^3$  отмеривают в эрленмейеровскую колбу с широким дном; туда же наливают  $10\text{ см}^3$  оливкового масла; смешивают до полной гомогенности, ставят в термостат при  $37^\circ$  на час; для контроля ставят одновременно такую же колбу с чистым оливковым маслом, без дуоденального сока. Через 60 минут прибавляют  $60\text{ см}^3$   $95\%$  спирта и 1—2 капли фенолфталеина и титруют  $n/10$  раствором едкого натра, как обычно. Разность между числом кубических сантиметров едкого натра, потраченного при титровании масла в первой и второй колбе, выраженную в кубических сантиметрах едкого натра, обозначают как липолитическую силу дуоденального сока; в норме она равна  $50\text{—}60\text{ см}^3$  едкого натра на  $100\text{ см}^3$  дуоденального сока.



Рис. 217. Определение количества липазы.

б) **Способ второй.** Липолитическая сила дуоденального сока испытывается на среде, состоящей из  $40\text{ г}$   $2\%$  агара,  $2\text{ г}$  крахмала,  $1\text{ г}$  свиного сала и  $40\text{ см}^3$  воды. Смесь кипятят до полного растворения, смешивают до гомогенности и выливают в чашку Петри слоем в  $2\text{—}3\text{ мм}$ . Дуоденальный сок разводят в геометрической прогрессии в  $10\text{—}11$  небольших пробирках. Наливают в каждую  $1\text{ см}^3$  воды, приливают к первой  $1\text{ см}^3$  дуоденального сока, смешивают, переносят  $1\text{ см}^3$  смеси во

вторую пробирку и т. д.; из последней пробирки избыточное количество выливают. В результате в каждой пробирке содержится  $1\text{ см}^3$  дуоденального сока в разведении в 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1 024 и 2 048 раз. Тонкой пипеткой берут по 1 капле из каждого разведения и помещают ее на поверхность среды; ставят в термостат при  $37^\circ$  или оставляют на сутки при комнатной температуре. Отмечают, при каком разведении еще происходит изменение среды. В нормальном дуоденальном соке граница активности соответствует разведению в 1 024 или даже в 2 048 раз, что составляет  $0,04\%$  (рис. 217).

3) **Определение диастазы.** Диастазу количественно определяют по тому же способу, как и в моче (см. «Моча»), но так как амилолитическое действие дуоденального содержимого значительно сильнее, чем в моче, то его предварительно разводят в 10 раз, а раствор крахмала берут  $1\%$ , а не  $1\%$ ; на последнее обстоятельство указывает прописное  $D$  вместо  $d$ . У здорового человека  $D \frac{38^\circ}{30'} = 160\text{—}2\,500$ . Определения диастазы затемняются тем, что к дуоденальному соку примешан птйалин слюны.

4) **Определение трипсина.** Кроме трипсина, в дуоденальном соке может иметься пепсин, попавший туда с желудочным содержимым; поэтому



проба с трипсином должна производиться при слабощелочной реакции, неблагоприятной для действия пепсина.

а) Качественная проба производится с меттовской трубкой (см. «Определение пепсина в желудочном содержимом»): отмеривают в пробирку 1 см<sup>3</sup> дуоденального содержимого, подщелачивают его содой до pH = 8,0—9,0 и погружают туда трубочку с белком. Можно также опустить каплю подщелоченного дуоденального содержимого на пластинку из 5% желатины в чашке Петри. В присутствии трипсина после 24-часового пребывания в термостате при 37° на поверхности пластинки образуется заметное углубление.

б) Количественное определение. Количественное значение исследованию на желатиновой пластинке можно придать, изготовив такие же разведения, как для определения липазы, но из дуоденального сока, предварительно подщелоченного содой; разведение, вследствие подщелачивания, приходится учитывать.

Пластинку оставляют на 24 часа при комнатной температуре. Обычно углубление вследствие переваривания получается с разведением в 1024 раза.

Чаще количественное определение производят по следующему способу: в 7 пробирок наливают по 2 см<sup>3</sup> 1% раствора казеина в 1% растворе соды; последняя пробирка служит для контроля; в первые 6 отмеривают фермент (дуоденальное содержимое) в нисходящей дозе, дополняя до одинакового объема физиологическим раствором хлористого натрия.

Берут примерно следующие соотношения:

Фермент в см <sup>3</sup>	1,0	0,64	0,25	0,40	0,16	0,10—
Физиологический раствор в см <sup>3</sup>	0,34	0,75	0,60	0,84	0,90	100

Реакция во всех пробирках должна быть слабощелочной и по возможности одинаковой. В каждую пробирку прибавляют немного толуола. Все пробирки переносят на 24 часа в термостат; по истечении этого времени прибавляют в каждую по несколько капель спиртового раствора уксусной кислоты (концентрированной уксусной кислоты 5 см<sup>3</sup>, спирта 45 см<sup>3</sup>, дистиллированной воды 50 см<sup>3</sup>) и отмечают, в которой из пробирок наступило помутнение. Если, например, полное переваривание белка произошло в первых трех пробирках, а в четвертой уже имеется непереваренный белок (помутнение), то, следовательно, 0,4 см<sup>3</sup> дуоденального содержимого достаточно, чтобы переварить 2 см<sup>3</sup> белкового раствора, а 1 см<sup>3</sup> может переварить 5 см<sup>3</sup> того же раствора; подобную переваривающую способность обозначают как 5 единиц.

Еще точнее и в то же время экономнее в отношении затраты времени титрометрический способ определения трипсина, основанный на том, что при переваривании белкового субстрата трипсином дуоденального содержимого увеличивается количество аминокислот; это увеличение можно измерить, оттитровывая щелочью карбоксильные группы аминокислот до и после переваривания.

Реактивы: 1) 2% раствор казеина: 2 г казеина растворяют в 50 см<sup>3</sup> 0,1N едкого натра в мерной колбе емкостью в 50 см<sup>3</sup>, прибавляют 1 каплю 1% спиртового раствора фенолфталеина, приливают 0,1N соляной кислоты до нейтральной реакции и несколькими каплями дистиллированной воды доводят до метки; 2) буферный раствор. Для действия трипсина наиболее благоприятна степень кислотности, соответствующая pH = 8,0; для достижения этой кислотности к подлежащей перевариванию смеси прибавляют цитратный буфер: а) отвешивают 22,6 г однозамещенного фосфорнокислого калия (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), высушенного в эксикаторе над серной кисло-



той до постоянного веса, и 35,7 г лимонной кислоты и растворяют в мерной колбе в 500 см<sup>3</sup> воды; 6) 2,5-п раствор едкого натра. К первому раствору приливают второй, пока не будет достигнута требуемая степень кислотности (рН=8,0); 3) к 100 см<sup>3</sup> 40% формалина прибавляют 10 см<sup>3</sup> 1% раствора фенолфталеина и доводят п/10 раствором едкого натра до еле заметного розового окрашивания; 4) для сравнения при титровании служит следующая смесь: к 4 см<sup>3</sup> п/2 раствора двузамещенного фосфорнокислого калия (отвешивают 87,125 г K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> и растворяют в 1000 см<sup>3</sup> воды) приливают 1,5 см<sup>3</sup> п/20 раствора едкого кали и 10 капель 0,1% раствора фенолфталеина; 5) п/20 раствор едкого натра.

**Оборудование.** Стеклянные стаканчики приблизительно 3 см в диаметре и 5 см высоты; металлический штатив с отверстиями для этих стаканчиков и кастрюля, куда штатив может быть погружен; далее, обыкновенная бюретка, пипетка, мерные колбы.

**Ход определения.** Активность трипсина определяют в различных порциях дуоденального содержимого, полученных до и после раздражения поджелудочной железы. Каждую порцию разводят в мерной колбе в 50 раз, отмеривают 1 см<sup>3</sup> и доводят дистиллированной водой до метки. Помечают на каждом стаканчике номер и отмеривают в каждый стаканчик 1 см<sup>3</sup> соответствующей порции разведенного дуоденального содержимого, 2 см<sup>3</sup> казеина (1), 0,5 см<sup>3</sup> буферного раствора (2) и 2 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Все стаканчики устанавливают в штатив и вносят последний на 30 минут в кастрюлю с водой, нагретой до 30°. По истечении этого срока вынимают штатив со стаканчиками из воды и приступают к титрованию. Одновременно заготавливают 2 стаканчика с дуоденальным содержимым, не подвергавшимся перевариванию, причем в один стаканчик помещают порцию, полученную до раздражения и содержащую наименьшее количество билирубина, а в другой — порцию, полученную после раздражения и содержащую наибольшее количество билирубина, затем заполняют оба стаканчика совершенно так же, как все остальные. Во все стаканчики наливают по 2 см<sup>3</sup> формалина (3) и титруют едким натром (5), сравнивая с цветом жидкости в контрольном стаканчике (4). Сравнение точнее, если оно производится в компараторе (см. «Моча» стр. 309 — «Определение концентрации водородных ионов»).

#### Пример определения

№ стаканчика	До переваривания	После переваривания	Разность
1	0,68	0,82	0,14
2	—	0,80	0,12
3	—	0,85	0,17
4	—	0,78	0,10
5	—	0,86	0,18
Раздражение			
1	0,74	1,05	0,31
2	—	1,20	0,45
3	—	1,24	0,50
4	—	1,18	0,44
5	—	1,30	0,56
6	—	1,30	0,56

**5) Масляный завтрак по Болдыреву.** Для исследования отделяемого поджелудочной железы Болдырев еще задолго до введения в клиническую практику метода дуоденального зонда предложил пользоваться масляным завтраком. Экспериментируя на собаках, он доказал, что, вводя в желудок масло, можно вызвать обратное поступление кишечного содержимого в желудок; то же он получил, проделав этот опыт на самом себе. Боль-



ному дают натошак 100 см<sup>3</sup> оливкового масла, к которому прибавляют 2% олеиновой кислоты или же 150 см<sup>3</sup> чистого масла. Желудочное содержимое перед началом пробы не должно быть очень кислым; если предыдущими исследованиями установлено, что желудок больного выделяет натошак сок очень кислой реакции, то делают промывание желудка слабым раствором соды; еще целесообразнее в каждом случае сначала предложить больному выпить 0,7 г жженой магнезии в 30 см<sup>3</sup> воды, а потом уже дать ему масло. Оливковое масло обычно не вызывает ни тошноты, ни каких-либо других неприятных побочных явлений, так что больной просто пьет его из стакана. Спустя 20 минут ему опять дают ту же дозу магнезии в небольшом количестве воды, а через 40—50 минут после того, как больной выпил масло, содержимое желудка извлекают посредством обыкновенного толстого зонда.

Полученную жидкость помещают в делительную воронку, собирают отдельно водный слой, фильтруют и производят описанные выше определения ферментов.

Против этого способа можно привести те же возражения, которые были сделаны против исследования содержимого двенадцатиперстной кишки, полученного при помощи дуоденального зонда, и даже с еще большим основанием, и все же он может дать ценные диагностические указания и, несомненно, заслуживает применения в тех случаях, например, когда олива дуоденального зонда не проходит через привратник. Однако встречаются случаи, когда и этим способом не удастся добыть для исследования сока поджелудочной железы; чаще всего это наблюдается при повышенной кислотности.

Для оценки функций поджелудочной железы полезные указания можно получить при микроскопическом исследовании фекальных масс, а также путем исследования диастазы в моче. Но количество диастазы в моче бывает увеличено также и при различных поражениях желчных путей, что несколько умаляет значение этого исследования по отношению к собственно поджелудочной железе (см. «Диастаза крови», стр. 235).

#### ГЛАВА ЧЕТВЕРТАЯ

### ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПРОБЫ ПЕЧЕНИ

Печень обладает многочисленными функциями. При ее заболевании могут претерпевать нарушения как преимущественно отдельные функции, так и одновременно многие из них.

Основными функциями печени являются: 1) выведение веществ из крови с желчью: желчных пигментов, холестерина, красок, лекарственных веществ и т. д.; 2) образование некоторых важных для организма веществ: фибриногена, гепарина или антитромбина, желчных кислот, мочевины, мочевой кислоты, билирубина из гемоглобина и уробилина, возможно, синтез белков плазмы и т. д.; 3) превращения веществ: превращение галактозы, левулезы и молочной кислоты в гликоген, дезаминирование и переаминирование аминокислот и т. д.; 4) обезвреживание токсических веществ — соединение их с серной и глюкуроновой кислотой, синтез гиппуровой кислоты и т. д.; 5) откладывание веществ из пищи: глюкозы в виде гликогена, витаминов А и D, железа, меди и др.

Исходя из этого многообразия функций печени, было предложено много соответствующих функциональных проб.



## ПИГМЕНТНАЯ ФУНКЦИЯ ПЕЧЕНИ

Одной из самых чувствительных и специфических проб функции печени является определение в крови качества и количества желчного пигмента — билирубина.

1) **Определение билирубина сыворотки по ван ден Бергу.** Принцип. Билирубин сыворотки дает с диазореактивом Эрлиха розово-красное окрашивание, интенсивность которого сравнивают в колориметре с окраской раствора билирубина определенной концентрации или с окраской эмпирически подобранного раствора.

а) **Качественное определение.** Ван ден Берг установил, что билирубин человеческой сыворотки имеется в двух различных модификациях. Нормальная сыворотка содержит очень небольшое количество билирубина; этот билирубин, однако, при прибавлении к сыворотке диазореактива не дает указанного розово-красного окрашивания. Чтобы получить эту реакцию, надо предварительно осадить белок спиртом: в безбелковом фильтрате окрашивание появляется. Реакция, появляющаяся только после обработки сыворотки спиртом и некоторыми другими веществами, называется **непрямой**.

При некоторых других патологических процессах, наоборот, розово-красное окрашивание получается уже после прибавления диазореактива к необработанной сыворотке, причем либо развивается немедленно в течение первых 30 секунд и сразу достигает максимума (прямая быстрая реакция), либо появляется только спустя некоторое время (прямая замедленная реакция); некоторые авторы различают, кроме того, прямую двухфазную реакцию: окрашивание наступает сразу, но лишь медленно достигает максимальной интенсивности.

**Требуемое количество крови:** 1—2 см<sup>3</sup> сыворотки (соответственно 4—5 см<sup>3</sup> крови).

**Реактивы:** 1) диазореактив Эрлиха состоит из двух растворов, соединяемых лишь перед началом исследования. Раствор «а»: 1 г сульфаниловой кислоты [парасульфаниловая кислота  $C_6H_4(NH_2) \cdot SO_3H \cdot 2H_2O$ ] и 15 см<sup>3</sup> соляной кислоты (удельного веса 1,125) растворяют в 1 л воды. Если сульфаниловая кислота плохо растворяется, то к отвешенному количеству ее сначала прибавляют часть воды и кислоту, подогревают, а затем уже доливают воду до метки. Так как при количественном определении оттенок получаемого окрашивания зависит в первую очередь от степени кислотности раствора, а правильное колориметрирование возможно только, если оттенки испытуемого вещества и стандарта вполне одинаковы, то указанное здесь соотношение необходимо соблюдать очень точно. Раствор «б»: 0,5% раствор азотистокислого натрия. К 8 см<sup>3</sup> реактива «а» прибавляют 0,25 см<sup>3</sup> реактива «б». Реактив не должен содержать избытка азотистой кислоты (отсутствие посинения иодкалиево-крахмальной бумажки); 2) 96% спирт; 3) для количественного определения необходим стандартный раствор.

Наилучшим и наиболее употребительным является раствор сернокислого кобальта. 1. Кобальтовый стандарт. Растворяют в 100 см<sup>3</sup> воды 2,161 г сернокислого кобальта, предварительно освобожденного от кристаллизационной воды путем нагревания до слабого красного каления и охлажденного; можно также взять 3,92 г кристаллического  $CoSO_4 \cdot 7H_2O$ . Этот раствор по окраске соответствует раствору билирубина 1:200 000 (0,5 мг%). Раствор стоек. 2. Раствор такой же окраски можно получить следующим образом: 1) отвешивают на аналитических весах 0,1508 г химически чистого препарата железосаммиачных квасцов



$[\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$ , растворяют в мерной колбе емкостью в  $100 \text{ см}^3$  в  $50 \text{ см}^3$  концентрированной соляной кислоты и доливают водой до метки; раствор (n/320) стоек; из этого основного раствора готовят разведение:  $10 \text{ см}^3$  основного раствора отмеривают в мерную колбу емкостью в  $250 \text{ см}^3$ , прибавляют  $25 \text{ см}^3$  крепкой соляной кислоты и доливают водой до метки; этот раствор соответствует n/8000; им можно пользоваться в течение месяца; 2) 10% раствор роданистого калия или роданистого аммония. В делительную воронку вносят  $3 \text{ см}^3$  первого раствора (n/8000),  $3 \text{ см}^3$  второго раствора и  $12 \text{ см}^3$  эфира и взбалтывают. В течение всей этой работы надо следить за тем, чтобы эфир не испарялся. При соединении обоих реактивов образуется роданистое железо, которое при взбалтывании с эфиром переходит в него и окрашивает его в розово-красный цвет. Водный раствор сливают, а эфирной вытяжкой наполняют клин колориметра Аутенрита. Интенсивность окраски его тоже соответствует раствору билирубина 1:200 000. Вытяжку приходится готовить каждый раз свежую (для нескольких реакций, выполняемых в течение одного рабочего дня).

3. Также можно пользоваться с этой целью точно приготовленным раствором билирубина: а) 5 мг билирубина отвешивают на аналитических весах и растворяют в  $100 \text{ см}^3$  чистого хлороформа; при хранении в темной хорошо закрытой склянке в прохладном месте этот раствор не изменяется в течение нескольких месяцев;  $1 \text{ см}^3 = 0,05 \text{ мг}$  билирубина; б) 0,6 г двууглекислого натрия и 3 г химически чистого хлористого натрия растворяют в 1 л 70% спирта.

Если нет хорошего препарата билирубина, пользуются эмпирически подобранным, подходящим по окраске раствором; раствор наливают в стаканчик колориметра типа Дюбоска или Бюркера или в клин колориметра Аутенрита. При колориметре Аутенрита имеется и готовый клин с приложенной к нему кривой, по которой нетрудно вычислить содержание билирубина (клин необходимо калибровать).

Калибровку клина при пользовании эмпирическими растворами желателно произвести при помощи раствора билирубина, обрабатывая его, как указано ниже. Если это невозможно, то в серию пробирок вносят 1, 2, 3... 9  $\text{см}^3$  эмпирического раствора, доводят в каждой пробирке водой до  $10 \text{ см}^3$  (при пользовании эфирной вытяжкой разбавляют эфиром), колориметрируют и наносят данные на миллиметровую бумагу, как обычно при калибровании; количество билирубина откладывают на абсциссе, соответствующие отметки на шкале (см. «Калибровка клина» откладывают на ординате и соединяют прямой линией. Другой способ вычисления состоит в следующем: шкала аутенритовского колориметра разделена на 100 частей, на верху ее соответственно наибольшей концентрации поставлен 0, а внизу — 100. Если все цифры соответствующим образом переместить, т. е. вместо 0 поставить 100, а вместо 100 — 0 (как это и сделано на новых моделях), а также переименовать все промежуточные цифры, то ясно, что, например, при отметке на шкале 60 концентрации испытуемой жидкости соответствует 40% концентрации стандартного раствора. После этого остается только учесть разведения сыворотки.

Оборудование: 1) точная пипетка Мора емкостью в  $1 \text{ см}^3$  для отмеривания сыворотки; 2) пипетка Мора емкостью в  $2 \text{ см}^3$  для спирта; 3) градуированная пипетка емкостью в  $1 \text{ см}^3$ ; 4) две градуированные пипетки емкостью в  $2 \text{ см}^3$ ; 5) несколько пробирок для центрифуги; 6) колориметр Аутенрита или Дюбоска.

Кровь берут из вены сухой иглой в сухую пробирку или сухим шприцем; гемолизированная кровь непригодна. Когда кровь свернулась,



сыворотку отсасывают и отмеривают по 1 см<sup>3</sup> в две пробирки для центрифуги. В одну из них прибавляют 2 см<sup>3</sup> воды (для прямой реакции), во вторую—2 см<sup>3</sup> спирта (осаждение белков для непрямой реакции). Жидкость во второй пробирке тщательно смешивают тонкой стеклянной палочкой и центрифугируют; прозрачную жидкость переносят в другую пробирку. В первую пробирку и в пробирку, содержащую жидкость, полученную при центрифугировании, вносят по 0,25 см<sup>3</sup> свежеприготовленного диазореактива (1) и наблюдают за изменением цвета. Если в первой пробирке наступило покраснение, то отмечают, появилось ли оно сразу или несколько минут спустя, или же постепенно усиливалось (см. выше—определение прямой замедленной и прямой двухфазной реакции). Обе реакции, прямую и непрямую, можно произвести с меньшим количеством сыворотки, соблюдая указанные соотношения: 1 объем сыворотки, 2 объема спирта и  $\frac{1}{4}$  объема диазореактива. Если имеется в виду произвести количественное определение, то можно непрямой реакции не делать, так как количественное определение есть по существу та же непрямая реакция.

б) Количественное определение. После осаждения белков спиртом (см. «Непрямая реакция») и отцентрифугирования осадка отмеривают 1 см<sup>3</sup> (или 2 см<sup>3</sup>) прозрачной жидкости в другую пробирку, прибавляют 0,25 см<sup>3</sup> (0,5 см<sup>3</sup>) диазореактива и 0,5 см<sup>3</sup> (1 см<sup>3</sup>) спирта и спустя 10 минут колориметрируют. Можно исходить из любого количества полученной при центрифугировании жидкости, соблюдая указанные соотношения.

Если сыворотка окрашена в очень интенсивно желтый цвет, то ее до добавления спирта разводят физиологическим раствором хлористого натрия в 2 или 4 раза. Если это было упущено, то уже готовую для колориметрирования жидкость разводят спиртом. Степень разведения учитывают при вычислении.

Если в качестве стандарта пользуются хлороформным раствором билирубина, то 1 см<sup>3</sup> стандартного раствора (3а), равный 0,05 мг, выпаривают в часовом стекле на водяной бане до сухости, осадок растворяют в 10 см<sup>3</sup> содово-спиртового раствора (3б), прибавляют 2,5 см<sup>3</sup> диазореактива и наливают в клин колориметра. Нетрудно убедиться в том, что этот раствор тоже содержит 0,5 мг% билирубина. Всю реакцию производят по возможности одновременно с обработкой исследуемой жидкости.

Нередко оказывается, что окраска исследуемой жидкости имеет более или менее резко выраженный фиолетовый оттенок, что затрудняет ее сравнение с чисто розово-красным клином. По большей части это зависит от того, что реакция исследуемой жидкости слишком кислая. Прибавлением капельки спиртового раствора аммиака иногда удается спасти исследование; изменение степени разведения при этом, конечно, ничтожно, так что ошибка несущественна. Если этого недостаточно, то исследование повторяют с новой порцией сыворотки и с самого начала подщелачивают спирт. Слишком щелочные растворы тоже имеют фиолетовый оттенок.

Вычисление. Относительно пользования колориметром Аутенрита было сказано выше. Необходимо иметь в виду, что сыворотка была разведена в 5 раз: при первоначальном разведении к 1 объему сыворотки было прибавлено 2 объема спирта, но разведение при этом получается не в 3 раза, как следовало бы ожидать, а, вследствие сокращения объема смеси после прибавления спирта, только в  $\frac{20}{7}$  раза. В дальнейшем к 1 см<sup>3</sup>



безбелкового раствора прибавляют 0,25 см<sup>3</sup> реактива и 0,5 см<sup>3</sup> спирта, т. е. разводят этот раствор в  $\frac{7}{4}$  раза. Таким образом, сыворотка была разведена в  $\frac{20}{7} \times \frac{7}{4} = 5$  раз.

Пример. Предположим, что на шкале Аутенрита при одинаковой интенсивности окраски было отмечено 50. Исследуемый раствор, следовательно, вдвое слабее стандартного. Его концентрация равна  $\frac{0,5}{2}$  мг<sup>0</sup>/о, но так как сыворотка была разведена в 5 раз, то концентрация сыворотки равна 1,25 мг<sup>0</sup>/о.

Если шкала колориметра показывала 60, то содержание билирубина в исследуемой крови равно:

$$\frac{0,5 \times (100 - 60) \times 5}{100} = 1 \text{ мг}^0/\text{о}.$$

Можно пользоваться и колориметром Дюбоска.

Описанная реакция не точна; в частности, ошибка вносится при осаждении белков спиртом: белки, осаждаясь, захватывают часть билирубина, который, таким образом, ускользает от определения. В некоторых случаях эта потеря довольно значительна. Более высокие, а следовательно, и более точные цифры получаются, если прибавить диазореактив до осаждения белков спиртом.

Реакция складывается следующим образом: к 1 см<sup>3</sup> сыворотки прибавляют 0,5 см<sup>3</sup> диазосмеси и, после того как окраска достигла максимума, 2,5 см<sup>3</sup> абсолютного спирта; центрифугируют; прозрачную жидкость колориметрируют, причем стандартом служит тот же 2,161 % раствор сернокислого кобальта. Надо помнить при вычислении результата, что сыворотка разведена только в 4 раза.

Если сыворотка резко гемолизирована, то работать по этому способу нельзя, так как гемоглобин недостаточно хорошо осаждается. В этих случаях либо повторяют определение, пользуясь негемолизированной сывороткой, либо производят его по оригинальному способу ван ден Берга, как описано выше.

Данные относительно содержания билирубина в нормальной сыворотке у различных авторов не совпадают. Ван ден Берг и многие другие считают нормальной концентрацию до 0,5 мг<sup>0</sup>/о билирубина. Однако сплошь и рядом получаются более высокие цифры без того, чтобы было какое-либо отклонение от нормы. Повидимому, за среднюю нормальную величину можно считать от 0,2 до 0,6—0,8 мг<sup>0</sup>/о; более высокие цифры — 1,0—1,7 мг<sup>0</sup>/о — означают наличие патологического процесса.

Сравнивать величины билирубина можно только при определении его одним и тем же методом.

Определение билирубина сыворотки с диазореактивом можно использовать для установления характера так называемого пищеварительного рефлекса. По предложению проф. Б. Б. Когана<sup>1</sup>, эта проба проводится следующим образом: утром натощак берут кровь из вены на билирубин, после чего дают больному завтрак (стакан молока, хлеб с маслом и т. д.) и через 1½—2 часа снова берется кровь для определения билирубина. В норме количество билирубина после завтрака снижается на 25—30%. В случае наличия заболевания печени (например, холангиты, холециститы и др.) количество билирубина, наоборот, повышается или остается без изменения (см. также определение диастазы крови).

<sup>1</sup> Терапевтический архив, № 5, 1937.



2) **Определение по Герцфельду и Бокальчуку.** Ориентировочные сведения о динамике билирубина в сыворотке можно получить также, разводя сыворотку в геометрической прогрессии и определяя, при каком количестве сыворотки еще удастся обнаружить билирубин.

Самое определение билирубина при этом производится либо путем окисления его в биливердин реактивом Гаммарстена, либо обработкой его диазосмесью, как в предыдущем способе. В первом случае приходится распознавать слабозеленое, во втором — слабозеленое окрашивание; первое, может быть, легче смешать со слабым желтоватым оттенком самой сыворотки, но в общем выбор того или другого способа зависит от индивидуальной чувствительности глаза к различным цветам.

**Реактивы:** 1) физиологический раствор хлористого натрия; 2) реактив Гаммарстена, состоящий из смеси 1 части 25% азотной и 19 частей 25% соляной кислоты. Концентрированная азотная кислота удельного веса 1,4 содержит 65,3% азота; следовательно, чтобы получить из нее 25% раствор (полной точности не требуется), нужно к 5 см<sup>3</sup> концентрированной азотной кислоты прибавить 8 см<sup>3</sup> воды. Концентрированная соляная кислота удельного веса 1,19 соответствует 37,23% раствору; следовательно, для получения 25% кислоты надо к 150 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты прибавить 73,5 см<sup>3</sup> воды. 10 см<sup>3</sup> разведенной, как указано, азотной кислоты смешивают с 190 см<sup>3</sup> разведенной соляной кислоты. Реактив готов к употреблению через 24 часа и в дальнейшем неограниченно стоек. Перед употреблением к 1 см<sup>3</sup> реактива прибавляют 4 см<sup>3</sup> 96% спирта; 2а) диазосмесь, приготовленная перед употреблением из сульфаниловой кислоты и азотистокислого натрия, как указано в предыдущем способе.

**Ход определения.** Для реакции нужно иметь 3 см<sup>3</sup> негемолизированной сыворотки (можно обойтись и меньшим количеством, см. ниже). Если произошел гемолиз, то на каждые 2 см<sup>3</sup> сыворотки прибавляют 4 см<sup>3</sup> 96% спирта и несколько крупинок соды, взбалтывают, центрифугируют; в дальнейшем необходимо учесть, что сыворотка уже была разведена в 3 раза.

Заготавливают в штативе ряд пробирок — тем больше, чем более интенсивно окрашена сыворотка. Наливают во 2-ю пробирку 1 см<sup>3</sup> физиологического раствора (1), в 3-ю — 2 см<sup>3</sup>, начиная с 4-й, во все пробирки — по 1 см<sup>3</sup> физиологического раствора. В 1-ю, 2-ю и 3-ю пробирку отмеривают по 1 см<sup>3</sup> сыворотки, смешивают; из 3-й пробирки 1 см<sup>3</sup> смеси отсасывают и выливают. Из 2-й пробирки переносят в 4-ю 1 см<sup>3</sup> смеси, взбалтывают, переносят 1 см<sup>3</sup> смеси в 6-ю пробирку, взбалтывают, переносят 1 см<sup>3</sup> смеси в 8-ю пробирку и т. д. Из 3-й пробирки таким же образом переносят последовательно 1 см<sup>3</sup> в 5-ю, 7-ю, 9-ю и т. д. пробирки. Таким путем получаем в 1-й пробирке цельную сыворотку, во 2-й — разведение в 2 раза, в 3-й — разведение в 3 раза, в 4-й — в 4 раза, в 5-й — в 6 раз и т. д. Если сыворотка окрашена очень резко, можно не сомневаться, что в первой пробирке проба будет положительной и начинать прямо со 2-й пробирки; это дает экономию сыворотки. В каждую пробирку наливают по 3—4 капли реактива Гаммарстена (2) или диазосмеси (2а). Отмечают последнюю пробирку, в которой еще имеется позеленение или порозовение. Для еле заметного окрашивания достаточно присутствия 0,0156 мг билирубина. Если, например, в 9-й пробирке окрашивания уже нет, то расчет ведут по 8-й пробирке, в которой сыворотка разведена в 16 раз; если, несмотря на разведение, в ней содержится 0,0156 мг билирубина, то в 1 см<sup>3</sup> цельной сыворотки в 16 раз больше, или  $0,0156 \text{ мг} \times 16 = 0,2496 \text{ мг}$ , что составляет 24,96 мг %.



Нормальная сыворотка при определении по этому способу содержит от 1,6 до 6,25 мг<sup>0</sup>/о билирубина.

Данные, таким образом, получаются в 10 раз бóльшие, чем в предъидущем (и некоторых других) способах. Возможно, что автором этого способа была допущена ошибка при определении чувствительности этого реактива, и на самом деле она в 10 раз больше, т. е. положительная реакция получается еще в присутствии 0,00156 мг билирубина. Если принять эту поправку, то нормальная кровь по этому способу содержит 0,16—0,65 мг билирубина.

3) **Вычисление билирубинового показателя.** Простым способом, устанавливающим динамику изменения билирубина, можно считать так называемый «билирубиновый показатель». Билирубиновым показателем называется отношение окраски сыворотки к раствору двуххромовокислого калия, который служит стандартом.

**Ход определения.** 1 г двуххромовокислого калия растворяют в мерной колбе емкостью 100 см<sup>3</sup> в небольшом количестве воды; прибавляют 2 капли концентрированной серной кислоты и доводят водой до метки. Устанавливают в штативе 11 чистых сухих пробирок, отмеривают в первую 10, во вторую 5 и далее 3,2, 1,5, 1,2, 1,0, 0,7, 0,5, 0,3 и 0,1 см<sup>3</sup> приготовленного раствора; во всех пробирках доводят объем до 10 см<sup>3</sup> дистиллированной водой. Переливают полученные таким образом растворы постепенно уменьшающейся концентрации в маленькие пробирки (10 × 100 мм) одного диаметра и запаивают или плотно закрывают их пробкой. Помечают их: 100, 50, 30, 20, 15, 12, 10, 7, 5, 3, 1. Числа непосредственно обозначают билирубиновый показатель. Отмеривают 2 см<sup>3</sup> сыворотки в пробирку такого же диаметра, в каких заготовлена стандартная шкала, и сравнивают в компараторе. Если окраска сыворотки слишком интенсивна, разводят ее физиологическим раствором хлористого натрия; степень разведения учитывают. Можно сравнивать сыворотку в колориметре Дюбоска или Аутенрита с 0,01% раствором двуххромовокислого калия, приготовленного из 1% раствора. Сыворотку, если она окрашена интенсивнее раствора двуххромовокислого калия, разводят физиологическим раствором. Билирубиновый показатель при пользовании колориметром Дюбоска равен  $\frac{B_{ст}}{B_x} \times \text{степень разведения}$ .

При нормальных условиях билирубиновый показатель редко превышает единицу; иногда находят от 3 до 5 единиц. Показатели от 6 до 15 встречаются при латентной желтухе (без окраски кожи), выше 15 — при клинически выраженной желтухе.

Описанная проба дает вполне удовлетворительные результаты, за исключением, однако, двух случаев: при диабете сыворотка содержит пигмент (липохром), который имеет ту же окраску и может симулировать высокий билирубиновый показатель. То же наблюдается при высоком содержании в сыворотке каротина пищевого происхождения (от приема большого количества моркови, зеленых овощей и т. д.).

Сыворотка должна быть получена натощак, так как пищевая липемия препятствует колориметрированию, и не должна содержать следов гемолиза.

4) **Проба с выделением билирубина.** Проба с выделением билирубина выявляет способность печени удалять этот пигмент из крови. Эта проба имеет наибольшее значение в тех случаях, когда нарушение функции печени не сопровождается билирубинемией выше 1 мг<sup>0</sup>/о.

**Принцип пробы.** Внутривенно вводят раствор билирубина и наблюдают за быстротой его исчезновения.



Проведение пробы. Внутривенно вводят раствор химически чистого билирубина из расчета 1 мг на 1 кг веса больного (но не более 70 мг). Билирубин растворяют в 15 см<sup>3</sup> m/10 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, который предварительно хорошо кипятят и остужают до 80°. Сухим шприцем берут кровь в оксалатованную центрифужную пробирку (см. «Химическое исследование крови», стр. 152) для контроля. Тем же шприцем в вену вводят раствор билирубина. Таким же способом через 5 минут после инъекции берут кровь из второй руки. Взятие крови повторяют через 4 часа. За это время больной не должен пить и есть. Все порции оксалатной крови центрифугируют, снимают плазму и в ней определяют билирубин следующим образом: 2 см<sup>3</sup> плазмы контрольной и взятой через 4 часа тщательно взбалтывают с 2 см<sup>3</sup> ацетона; плазмы крови, взятой через 5 минут, берут 1 см<sup>3</sup> и смешивают с 4 см<sup>3</sup> ацетона (учитывать при расчете!). Все 3 пробирки после тщательного взбалтывания центрифугируют и фильтруют через маленький фильтр прямо в стаканчик колориметра и определяют билирубин по окраске. Стандартом служит бихромат калия 1:1 000. Расчет производят, исходя из разницы между концентрацией окраски в контрольной пробе и взятой через 5 минут после инъекции билирубина, причем эту величину принимают за 100%. Концентрация окраски билирубина в пробе, взятой через 4 часа, в норме должна составлять не больше 5% этой разницы. Выведение замедляется при диффузном гепатите, некоторых формах циррозов и т. д.

Экскреторная функция печени может определяться также введением внутривенно красок: 1) бромсульфалеина из расчета 2 мг на 1 кг веса тела; краска в норме удаляется через 30 минут после инъекции; 2) розбенгала (тетраиод-тетрахлор-флюоресцеин) в количестве 10 см<sup>3</sup> 1% раствора; кровь берется через 2 минуты и через 8 минут. В норме уже через 8 минут остается всего 50% краски.

5) Диагностическое значение прямой и непрямой реакции и повышенного количества билирубина. Несмотря на большое количество работ, до сих пор не установлено, в чем заключается разница между обоими видами билирубина. Одни авторы предполагают, что непрямой билирубин находится в соединении с белками и может быть обнаружен только после осаждения белков; другие считают, что есть разница в химических свойствах этих двух видов билирубина, которые приобретаются после прохождения через печеночную клетку. Отсюда билирубин крови, не дающий прямую реакцию ван ден Берга, носит название «гемобилирубин». Билирубин же, выделенный из пузырной желчи и прошедший через печеночную клетку, дает прямую реакцию и называется «хлебный билирубин». При застойных желтухах он может попасть обратно в кровь, но не теряет своих свойств давать прямую реакцию.

Для суждения о характере заболевания следует согласовывать показатели билирубина крови с наличием и количеством уробилина (уробилиногена) мочи и кала (стеркобилина) (см. «Метод определения уробилина», стр. 550).

Клинически прямая реакция характерна в первую очередь для желтухи, вследствие механического препятствия к оттоку желчи. Но в первые дни болезни, равно как в период выздоровления, прямая реакция может отсутствовать; количество билирубина в сыворотке при этом относительно невелико, в то время как в моче его содержится относительно много. В моче обычно содержатся лишь следы уробилина, экскременты обесцвечены. При немеханических желтухах получают совершенно иные данные. При желтухе печечно-клеточного происхождения или возник-



шей на почве воспаления желчных путей, количество билирубина в крови очень велико, в то время как моча содержит относительно мало билирубина, но довольно много уробилина; последний в большом количестве содержится и в фекальных массах.

При циррозах, развивающихся на почве поражения печеночной паренхимы, количество билирубина в крови велико, реакция прямая; билирубинурии нет, уробилина обычно очень много. При токсических циррозах, например, алкогольном, билирубин дает только непрямую реакцию, в моче много уробилина. Если цирроз развился на почве хронического воспаления желчных путей, то билирубина в сыворотке мало, но он дает прямую реакцию; наблюдается билирубинурия.

Спленомегалические циррозы сопровождаются незначительной гипербилирубинемией с непрямой реакцией; уробилина в моче мало, фекальные массы также негиперхромны.

Для гемолитической желтухи характерна более или менее резко выраженная гипербилирубинемия с непрямой реакцией; фекальные массы резко окрашены, много уробилина, моча не содержит желчных пигментов.

При инфекционных заболеваниях (брюшной тиф) и аппендиците развиваются поражения печени типа воспаления желчных путей; билирубин иногда дает прямую реакцию, но количество его невелико; тем не менее он выделяется с мочой. Временами в моче имеется уробилин. Фекальные массы гиперхромны. При крупозной пневмонии повышенное количество билирубина в сыворотке свидетельствует о тяжести случая.

Схематическое соотношение желчных пигментов и их дериватов при различных формах желтухи представлено в табл. 48.

Таблица 48

	Билирубин крови		Уробилиноген и уробилин в день в мг		Примечание
	прямой	непрямой	моча	испражнения	
<b>Желтуха застойная</b>					
Камни без осложнений . . . . .	+++	+	0—6	10—250	{ Неполное закрытие протока Полное закрытие протока
"  с осложнениями . . . . .	+++	+	4—50	10—250	
Новообразования . . . . .	+++	+	0—0,3	0—2	
<b>Желтуха при гепатите</b>					
Цирроз . . . . .	+	+	4—100	8—200	Закрытие протока отсутствует
Цирроз или заболевание печени, сопровождающееся разрушением крови . . . . .	+++	+	20—200 4—200	300—1 200 10—300	
Острая катарральная желтуха . . . . .	+	+			
<b>Гемолитическая желтуха</b>					
Неосложненная . . . . .	—	++	1—10	300—1 800	Разрушение крови
Осложненная инфекционными заболеваниями, анемией, инфарктом, крупозной пневмонией и т. д. . . . .	—	++	10—300	300—2 500	



Наряду с нарушением пигментного обмена, при заболеваниях печени наблюдается определенная закономерность изменения холестерина. Так, при застойной желтухе, наряду с большим содержанием билирубина, наблюдается очень высокий уровень холестерина, который падает медленнее, чем билирубин. При паренхиматозных заболеваниях печени обычно при наличии желтухи уровень холестерина невысок. Иногда в конце заболевания, когда желтуха проходит, холестерин может повышаться.

### ПРОБА С НАГРУЗКОЙ ГАЛАКТОЗОЙ

Определение сахара крови после нагрузки глюкозой для установления функции печени в настоящее время оспаривается многими авторами. Критика основана на фактах получения различных результатов при повторении проб; ненормальные кривые выявляются также при различных эндокринных расстройствах, артритях и т. д. Было установлено, что большее значение при нагрузках регос имеет и состояние желудочно-кишечного тракта (быстрота всасывания глюкозы). На форму кривой влияет также предыдущая диета; так, после богатой углеводами пищи в предыдущие дни получается низкий уровень кривой после нагрузки глюкозой, и наоборот: имеется высокий подъем после белковой диеты или голодания (см. стр. 162).

Все это повело к тому, что были предложены нагрузки другими видами моносахаридов, которые усваиваются только после их перехода в печени в глюкозу. К таким пробам относится проба с нагрузкой галактозой. В норме после приема галактозы очень небольшое количество ее выделяется с мочой. При нарушении функции печени с мочой выводится большое количество галактозы.

Проведение пробы. Больной мочится натощак, и эта порция мочи служит контролем. После этого больному дают 40 г галактозы, растворенной в 400 см<sup>3</sup> воды. Собирают мочу каждый час в течение 6 часов или больше, т. е. до тех пор, пока в моче не перестанет определяться сахар. Во время пробы больной может пить воду. В конце пробы все порции мочи, содержащие сахар, сливают вместе и определяют в них количество галактозы химическим методом, но полученную величину, вычисленную на глюкозу, умножают на 0,87, так как галактоза редуцирует меньше (см. стр. 326). Нормально выведенная галактоза не должна превышать 2,5 г; при заболеваниях печени обычно выделяется больше 3 г; при инфекционных желтухах количество галактозы в моче значительно выше, чем при обтурационной желтухе. Параллельно с собиранием мочи можно брать кровь через 1 час, 1 час 30 минут, 2 часа и 3 часа после дачи галактозы и определять в ней содержание сахара. В норме получается кривая нормального типа, т. е. содержание сахара возвращается к исходному через 1—1½ часа. Замедленное снижение кривой служит показателем нарушения функции печени. Если во взятых пробах предварительно сбродить глюкозу с дрожжами, то подъем кривой при введении галактозы в норме не превышает 15—18 мг%. Недостаток печени утилизировать галактозу, но и способность кишечника всасывать ее.

### ТИМОЛОВАЯ ПРОБА

Принцип. При поражении паренхимы печени структура белков сы-воротки изменяется; они приобретают свойства, позволяющие им действовать на коллоидные растворы, суспензии и т. д., изменяя их физико-химическое состояние (переходя их в более грубое дисперсное состояние).



**Р е а к т и в ы:** 1) барбитуровый буфер с рН, равным 7,8, насыщенный тимолом: барбитуровокислого натрия (мединала) — 1,03 г, барбитала (веронала) — 1,38 г, тимола, измельченного в порошок, — 3 г. Все это помещают в литровую эрленмейеровскую колбу, наливают 500 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и нагревают почти до кипения. Тимол при этом плавится и раствор просветляется; его тщательно взбалтывают и охлаждают до комнатной температуры; при этом раствор мутнеет. Добавляют небольшое количество тимола в порошке, снова взбалтывают и оставляют при комнатной температуре на 20 часов (до следующего утра). При этом на дно колбы выпадают кристаллы тимола, и раствор вновь просветляется. Смесь хорошо взбалтывают и фильтруют, если нужно, повторно. Прозрачный бесцветный раствор служит реактивом и может храниться долгое время; 2) стандартная жидкость — раствор BaCl<sub>2</sub> 0,2% безводной соли; 3) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> — 0,2 N.

**Х о д о п р е д е л е н и я.** В кюветку нефелометра или фотометра (фильтр S 65) наливают 3 см<sup>3</sup> тимолового реактива и сюда же приливают 0,05 мл свежей сыворотки без следов гемолиза. Все это тщательно размешивают стеклянной палочкой и через 30 минут определяют степень мутности, сравнивая со стандартной жидкостью или по заготовленной обычным способом кривой.

**Приготовление стандартной жидкости.** Готовят три стандартных раствора: 1) 3 см<sup>3</sup> раствора BaCl<sub>2</sub> (2), разведенные в мерной колбе на 100 мл в H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3), хорошо смешивают и охлаждают до 10°; мутность этого раствора условно принимают за единицу; 2) 1,65 см<sup>3</sup> BaCl<sub>2</sub> (2) смешивают в кюветке аппарата с 1,35 см<sup>3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3) (смешать тщательно); мутность — 10 единиц; 3) 3 см<sup>3</sup> BaCl<sub>2</sub> + 0,3 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, тщательно смешанные в кюветке нефелометра; мутность — 20 единиц.

В норме мутность составляет от 0 до 4,7 единицы, в среднем 2,66 единицы; при поражении паренхимы печени она достигает 15—20 единиц.

В качестве стандартной жидкости можно брать раствор казеина.

### ПРОБА С КЕФАЛИНОМ

**П р и н ц и п** реакции тот же, как и предыдущий. Эта реакция основана на том, что эмульсия кефалин + холестерин дает флоккуляцию при добавлении сывороток крови больных с нарушениями функции паренхимы печени.

**Р е а к т и в ы:** 1) кефалин из бараньего мозга. Мозг измельчают мясорубкой, экстрагируют ацетоном 3 раза. Последний ацетон сливают, а мозговую кашицу высушивают на воздухе и растирают. Сухой порошок экстрагируют 3 раза эфиром; эфирный экстракт концентрируют в вакууме и из него осаждают кефалин добавлением 4 объемов абсолютного спирта. Спирт сливают и осадок растворяют в небольшом количестве эфира. Процедура осаждения спиртом и растворения эфиром повторяется 2 раза; отделение осадка после охлаждения производится центрифугированием. В конечном итоге осадок отфильтровывают, промывают на фильтре спиртом и ацетоном и высушивают. Препарат кефалина представляет собой коричневатого цвета порошок, содержащий следы других липоидов, которые не мешают реакции; 2) стойкий раствор кефалина: растворяют 100 мг кефалина и 300 мг холестерина в 8 см<sup>3</sup> эфира (рго parcosi); раствор может храниться несколько месяцев в хорошо закупоренной склянке; 3) кефалин-холестериновая эмульсия: 1 см<sup>3</sup> стойкого раствора кефалина (2) смешивают с 35 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, нагретой до 65—70°. Смесь доводят до кипения; при этом эфир испаряется, и получается стойкая



молочная эмульсия, которая применяется по охлаждении для производства реакции. Эмульсия пригодна один день.

Ход определения. Для реакции берется свежая сыворотка или сохраненная на льду в течение одних суток. Посуда, в которой сохраняется сыворотка, должна быть чистой, не содержать следов тяжелых металлов и кислот. В центрифужную пробирку наливают 4 см<sup>3</sup> физиологического раствора и добавляют 0,2 см<sup>3</sup> сыворотки больного, хорошо смешивают, затем приливают 1 см<sup>3</sup> холестерино-кефалиновой эмульсии (3), хорошо взбалтывают, закупоривают пробкой, оставляют стоять при комнатной температуре. По истечении 24 часов, а иногда и 48 часов отмечается флокуляция или выпадение осадка. При отрицательной реакции флокуляции не бывает; при резко положительной реакции (++++) получается обильный осадок, который выпадает на дно, а жидкость над ним становится прозрачной. Промежуточные степени флокуляции отмечаются: +++ или ++ и т. д. Если через 48 часов флокуляция отсутствует, а имеется слабая муть, — реакция отрицательная.

Диагностическое значение. В норме отмечается отрицательная реакция или изредка небольшая флокуляция (+); отрицательная реакция получается при обтурационной желтухе; однако при длительном ее течении может появиться слабо положительная реакция (++) и (+), что указывает на присоединившееся поражение паренхимы печени. Положительная реакция получается при нарушениях функции паренхимы печени, причем степень флокуляции идет параллельно тяжести заболевания. Особенно отчетливый результат получается при лаеннековском циррозе.

Результат этой пробы не всегда совпадает с результатом других функциональных проб печени.

Механизм реакции: при нарушении функции паренхимы печеночных клеток изменяются глобулины крови, увеличивается количество  $\gamma$ -глобулина; последние приобретают способность склеивать частички кефалин-холестериновой эмульсии (см. также «Определение протромбина», стр. 115).

### РЕАКЦИЯ ТАКАТА-АРА

Фуксиново-сулемовая реакция, предложенная Таката-Ара в 1926 г. для исследования спинномозговой жидкости (см. «Спинномозговая жидкость»), была применена для исследования крови при печеночных заболеваниях. Техника реакции многократно менялась различными авторами. Принцип реакции тот же, что и в тимоловой пробе.

Методика реакции (видоизмененная). Реактивы те же, что и при производстве реакции со спинномозговой жидкостью. Реакция ставится в 4 пробирках с разведениями сыворотки 1:8; 1:16; 1:32 и 1:64.

В 1-ю пробирку наливают 1,75 физиологического раствора, в остальные по 1 см<sup>3</sup>; далее в 1-ю пробирку приливают 0,25 см<sup>3</sup> сыворотки крови, смешивают, переносят из нее 1 см<sup>3</sup> во 2-ю пробирку; смешав содержимое 2-й пробирки, переносят 1 см<sup>3</sup> его в 3-ю пробирку и из 3-й точно таким же способом — в 4-ю пробирку. Из 4-й пробирки 1 см<sup>3</sup> выливают. Таким образом, в каждой пробирке остается по 1 см<sup>3</sup> жидкости.

Во все пробирки приливают по 1 капле 10% раствора безводной соды и по 0,3 см<sup>3</sup> смеси (приготовленной ex tempore) из равных частей сулемы и фуксина. Реакцию читают тотчас, а затем через 5, 10, 30 минут и через 18—24 часа.

Положительный результат сказывается выпадением осадка в первых 3 пробирках; 4-я пробирка не учитывается, так как она дает выпадение



осадка и в отрицательных случаях. Выпадение осадка тотчас по прибавлении реактивов расценивается как резко положительный результат, а позднее выпадение осадка — в течение суток — как слабо положительный.

В отрицательных случаях жидкость остается прозрачной. Цвет осадка значения не имеет, так как он непостоянен.

Реакцию можно ставить и по упрощенной методике Д. П. Боровской в одной пробирке. При этой модификации применяется взамен 0,5% раствора сулемы 0,25% раствор.

Из сыворотки, разведенной в 8 раз, отмеривают 1 см<sup>3</sup>, приливают 1 каплю 10% раствора безводной соды и 0,3 см<sup>3</sup> смеси 0,25% раствора сулемы с 0,02% раствора фуксина (взятых поровну).

В положительных случаях уже через 5 минут появляется муть, которая иногда усиливается в течение 24 часов. Отрицательные сыворотки остаются прозрачными.

Реакция неспецифична для цирроза печени, так как дает положительный результат и при некоторых других заболеваниях печени (эхинококк, рак), но все же она в известных случаях облегчает постановку диагноза, давая возможность дифференцировать асцит на почве цирроза печени от асцита вследствие сердечной недостаточности.

### РЕАКЦИЯ ВЕЛЬТМАНА (1930) (КОАГУЛЯЦИОННАЯ ЛЕНТА ВЕЛЬТМАНА)

Реакция основана на том, что нормальные гидрофильные белки сыворотки в дисперсной фазе в результате нагревания становятся гидрофобными и при подходящей концентрации электролитов выпадают в виде хлопьев. Данные ряда авторов показали, что результат реакции не стоит в связи с увеличением содержания глобулина (абсолютным или относительным) или фибриногена; не влияет на него и содержание кальция и хлоридов.

**Принцип реакции.** Сыворотка крови смешивается с растворами двувалентных ионов (кальция) различной концентрации; смесь нагревается в кипящей водяной бане, после чего появляется муть различного вида. Сыворотка должна быть свежей (не старше 1—2 дней) и негемолизированной.

**Техника реакции.** Готовят основной 10% раствор кристаллического хлористого кальция и из него готовят 12 разведений: 0,1%, 0,09%, 0,08%, 0,07%, 0,06%, 0,05%, 0,045%, 0,04%, 0,035%, 0,03%, 0,02%, 0,01%.

Разведения нет надобности готовить каждый раз заново, если реакция ставится не очень редко.

В штатив (лучше всего проволоочный) ставят 12 пробирок; пробирки занумеровывают и наливают во все по 0,1 см<sup>3</sup> исследуемой сыворотки и по 5 см<sup>3</sup> каждого из приготовленных разведений. Смешивают содержимое пробирок осторожным дву-тремякратным опрокидыванием, избегая образования пены, и ставят штатив с пробирками в кипящую водяную баню на 15 минут, следя за тем, чтобы кипение не прекращалось. Вынув штатив с пробирками из бани, отмечают результат. Жидкость в пробирках после нагревания может быть прозрачна, слегка мутновата, мутна, или же содержать выпадающие хлопья. Разница между мутью и выпадением хлопьев обычно очень отчетлива. Отмечают пробирки, в которых произошло выпадение хлопьев. В нормальной сыворотке выпадение хлопьев наблюдается в первых 6 пробирках, иногда неясные хлопья — также и в 7-й пробирке (по Вельтману длина ленты в норме 6—7), т. е. нормальная сыворотка свертывается при концентрации хлористого кальция выше чем 0,04%.



Диагностическое значение. Патологические случаи дают двоякого рода отклонения: 1) свертывание может получаться в меньшем числе пробирок, т. е. лента может быть укорочена; такое изменение Вельтман называет сдвигом влево; при резком сдвиге влево может не быть свертывания ни в одной пробирке; 2) свертывание может получаться в большем числе пробирок, т. е. лента может быть удлинена; удлинение ленты Вельтман называет сдвигом вправо.

Как правило, при циррозе и нарушении паренхимы печени наблюдается сдвиг вправо, т. е. выпадение хлопьев имеется почти во всех пробирках. Реакция неспецифична.

### ОБРАЗОВАНИЕ ГИППУРОВОЙ КИСЛОТЫ (ПРОБА КВИКА)

Принцип реакции. К синтетической функции печени относится образование гиппуровой кислоты. Нормально при попадании бензойной кислоты в организм она соединяется с гликоколем и выводится мочой в виде гиппуровой кислоты. У людей этот процесс в основном происходит в печени, у травоядных же животных этот синтез идет в почках.

При поражении печени этот синтез уменьшается, что сказывается на уменьшении выведения гиппуровой кислоты мочой. Проба ставится следующим образом.

а) Нагрузка *per os*. Больной утром в день пробы съедает легкий завтрак (100 г хлеба с маслом и чай с сахаром); через час он получает 6 или 4 г бензойнокислого натрия, растворенного в 30 см<sup>3</sup> воды, и запивает его полстаканом воды. Непосредственно перед этим больной опорожняет мочевого пузыря. После этого в течение 4 часов аккуратно собирают мочу (не следует давать больному пить, так как желательно получить концентрированную мочу) и измеряют ее. Если количество мочи превысит 150 см<sup>3</sup>, ее выпаривают до этого объема, добавляя несколько капель ледяной уксусной кислоты. Если мочи меньше, отмечают объем. Затем мочу сливают в химический стакан, прибавляют хлористый натрий в количестве 30 г на каждые 100 см<sup>3</sup> мочи и нагревают при помешивании до тех пор, пока вся соль не растворится. Быстро охлаждают до 15—20°, добавляют 1 или 2 см<sup>3</sup> п/10 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (приблизительно), помешивая и поскребывая по стенке для ускорения кристаллизации гиппуровой кислоты. Охлаждают мочу в течение 15 минут в холодной воде или на льду и затем фильтруют, употребляя маленький фильтр (можно не сильно отсасывать). Осадок промывают 30% раствором NaCl до тех пор, пока промывной раствор не будет свободен от H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (проба с BaCl<sub>2</sub>). Воронку с фильтром опускают в тот же стакан, в котором происходило осаждение гиппуровой кислоты (возможны остатки кристаллов на стенке стакана). Наливают в него 100 см<sup>3</sup> горячей воды, которую приливают пипеткой по стенкам, чтобы растворить весь осадок; немного подогревают стакан до растворения осадка и титруют горячим 0,5 N NaOH (индикатор — фенолфталеин).

Расчет: 1 см<sup>3</sup> 0,5 N NaOH эквивалентен 1 см<sup>3</sup> 0,5 N бензойнокислого натрия; 1 см<sup>3</sup> 0,5 N бензойнокислого натрия соответствует 0,072 г гиппуровой кислоты. Отсюда количество миллилитров 0,5 N NaOH, умноженное на 0,072 г, равно количеству гиппуровой кислоты. Поправка на растворимость гиппуровой кислоты в 150 см<sup>3</sup> мочи равна 0,15 г (0,1 г в 100 см<sup>3</sup> воды). Данную величину необходимо прибавить к полученному результату. Чтобы выразить результат в количестве гиппуровой кислоты, следует количество полученного бензойнокислого натрия умножить на 1,24 г (молекулярный вес бензойнокислого натрия — 144,1 г, а гиппуровой кислоты — 179,17 г; отсюда  $179,17:144,1 = 1,24$ ).



При наличии в моче белка необходимо предварительно освободиться от него. Измеряют объем мочи, прибавляют 5 см<sup>3</sup> 20% CuSO<sub>4</sub>, помешивая, прибавляют нормальный раствор NaOH из расчета 5 см<sup>3</sup> на каждые 100 см<sup>3</sup>. В случаях с большим содержанием белка количество как CuSO<sub>4</sub>, так и NaOH удваивается. Хорошо встряхивая, нагревают мочу почти до кипения, после охлаждения фильтруют в градуированный цилиндр, учитывают объем мочи и дальше проводят анализ, как указано выше.

Норма выделения гиппуровой кислоты у взрослого за 4 часа равна 3—3,5 г при даче 6 г бензойнокислого натрия.

б) Внутривенная нагрузка. Через 1 час после легкого завтрака больному дают выпить стакан воды и заставляют помочиться. Затем медленно (5 минут) вводят внутривенно раствор, содержащий 1,77 г бензойнокислого натрия в 10 см<sup>3</sup> воды. Через час собирают мочу и в ней определяют гиппуровую кислоту, как сказано выше. В норме гиппуровой кислоты выделяется 1,0—1,4 г.

Диагностическое значение. Пониженное выведение гиппуровой кислоты наблюдается при острой катарральной желтухе, разных формах гепатита и цирроза. Нормальные цифры наблюдаются при холециститах, холелитиазах, застое желчи при желчнокаменной болезни; понижается количество гиппуровой кислоты при сердечной декомпенсации, а также при заболеваниях почек, при которых эта проба противопоказана.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММАРНОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ ПЕЧЕНИ

Определение суммарной функциональной способности печени производится методом определения суточной кривой уробилинурии, предложенным И. И. Сперанским в 1935 г.

В течение суточного цикла печень подвергается различным воздействиям (приемы пищи, различные биохимические процессы, связанные с обменом веществ при физических напряжениях, и т. п.), которые требуют выполнения ее различных функций, причем в то же время печень должна непрерывно осуществлять и свою пигментную функцию. В норме суммарная функциональная способность печени настолько велика, что печень справляется с рядом различных функций и одновременно хорошо выполняет пигментную функцию; в результате наблюдается лишь незначительная физиологическая уробилинурия. При поражении печени весьма часто наблюдается ограничение суммарной функциональной способности органа, и выполнение одновременно с другими функциями пигментной функции страдает; в результате наблюдается повышенная уробилинурия.

Определение суточной кривой уробилинурии. Мочу собирают трехчасовыми порциями, как при пробе Зимницкого; в каждой порции определяют содержание уробилина (определение ведется в 2 см<sup>3</sup> мочи с соответственным уменьшением всех реактивов, см. стр. 551). Полученные цифры наносятся на миллиметровую бумагу в виде кривой.

В норме кривая уробилинурии идет низко над осью абсцисс, давая лишь после приема пищи небольшие колебания и не превышая 1 мг%. В легких случаях поражения печени в периоды максимальной загруженности печени (обычно после обеда) отмечается повышение кривой в виде более или менее высокого и широкого зубца. При более значительном поражении печени наблюдаются более длительные повышения кривой, захватывающие несколько трехчасовых периодов (например, весь день). При еще более тяжелом поражении печени суточная кривая круглые сутки



будет высокой; при этом на ней могут быть еще зубцы более значительного повышения.

Ограничение суммарной функциональной способности печени является одним из самых ранних признаков ее поражения. По различным типам суточной кривой уробилинурии можно судить о наличии поражения суммарной функциональной способности печени и степени его (подробности см. Клиническая медицина, т. XIII, № 5, 1935).

## ГЛАВА ПЯТАЯ

# ОБЩЕЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КАЛОВЫХ МАСС

Исследование каловых масс, за исключением гельминтологического, до сравнительно недавнего времени не занимало в обследовании больного того места, которое издавна завоевали себе исследования мочи, мокроты и желудочного сока. Определенный сдвиг в этом отношении наметился лишь в последние два десятилетия благодаря работам А. Г. Алексеева, Вишнякова и Гуаффона.

Исследование каловых масс распадается на три раздела: 1) так называемое общее исследование, куда входит макро-микроскопическое и химическое исследование, 2) паразитологическое и 3) бактериологическое исследование.

1) **Состав каловых масс.** Каловые массы формируются в толстых кишках из пищевой кашицы, поступающей из тонких кишок. При известных условиях, когда пища состоит почти исключительно из чистых, легко усвояемых веществ и когда пищеварительные органы функционируют нормально, каловые массы почти не содержат остатков пищи. Они состоят тогда главным образом из живых и мертвых бактерий, масса которых составляет до 50% массы кала, остатков пищеварительных соков, отторгнутого омертвевшего эпителия, совершенно потерявшего свою структуру, нерастворимых солей и клетчатки. Если же пища отягощена неперевариваемыми примесями, например, компактными частями клетчатки, осколками костей, хрящей и т. д., то эти твердые части, механически раздражая слизистую кишечника, обуславливают более обильное отделение пищеварительных соков и слизи и вызывают усиленную перистальтику. Вследствие этого, пища быстрее проходит по кишечнику, и в кале появляются неизменные или мало измененные пищевые вещества. При нарушении функции тех или иных отделов кишечника не вполне переваренные пищевые вещества могут выделяться и при легко усвояемой пище. Таким образом, состав каловых масс зависит, с одной стороны, от состава пищи, с другой — от деятельности пищеварительных органов.

2) **Собирание материала.** Для правильной оценки результатов исследования очень важно, чтобы кал не содержал посторонних примесей — мочи, бая (после рентгенологического исследования), жира (от применения свечей или слабительных), воды с различными медикаментами (после клизм). Лучше всего исследовать кал после самостоятельной дефекации, стремясь к тому, чтобы кал был свежий или простоявший на холоду не более 12 часов.

Кал должен быть доставлен в чистой, сухой и просторной посуде, чтобы его не приходилось запихивать; желательно видеть его таким, каким он выделился; вот почему там, где это возможно, желательно получать кал за всю дефекацию. Совершенно недопустима доставка кала в картонных коробочках или бумаге.



3) **Пробная диета.** Чтобы получить определенное представление о функции кишечника, лучше всего держать больного в течение 3 дней до исследования на определенном пищевом режиме, на так называемой пробной диете. Принцип пробной диеты заключается в том, что в нее в установленных соотношениях входят соединительная и мышечная ткань, растительная клетчатка, жиры и крахмал. Это имеет особенное значение для суждения о функциях тонких кишок, позволяет выявить нарушение процессов всасывания.

Пробная диета по Певзнеру: хлеб белый — 200 г, черный — 200 г (на весь день), сахар — 40 г; в 9 часов: масло — 10 г, гречневая каша с маслом, яйцо всмятку, чай с молоком; в 11 часов: чай с молоком (молока 100 см<sup>3</sup>), масло — 10 г (хлеб из дневной порции); в 2 часа: борщ мясной, жареное мясо куском (мяса 150 г), овощи (жареный картофель, тушеная морковь, салат, квашеная капуста или салат из свежей капусты), компот из сушеных фруктов; в 4 часа: чай со сладкими сухариками, свежие яблоки; в 7 часов: мясо жареное куском (100 г), отварной рис (цельный) с маслом.

Химический состав: белок — 100 г, жиры — 100 г, углеводы — 450 г, калорий — 3 200.

## МАКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Из изложенного выше ясно, что кал может быть очень разнообразен не только при микроскопическом исследовании, но и по внешнему виду. Поэтому, раньше чем приступить к микроскопическому исследованию, нужно произвести тщательный осмотр доставленного кала простым глазом. При этом осмотре необходимо обратить внимание на количество, форму кала, его плотность и цвет, затем на различные составные части (видимые простым глазом остатки непереваренной пищи, слизь, гной, кровь и т. д.).

### 1. Общие свойства

1) **Количество.** Вес кала за одну дефекацию составляет в среднем 100 — 250 г. Вес этот, однако, колеблется в широких пределах и может доходить до нескольких килограммов, причем он зависит не столько от рода пищи, сколько от состояния органов пищеварения: он умеренно увеличивается при закупорке желчных протоков — до 300—350 г, резко увеличивается при заболевании поджелудочной железы и тяжелом энтерите и сильно уменьшается при хронических запорах. Так как число дефекаций непостоянно, то для клинических и научных наблюдений рекомендуется выводить среднее суточное количество после нескольких дней наблюдения.

2) **Плотность.** Кал может быть оформленным, кашицеобразным и жидким. Оформленный кал может быть мягким и плотным. Плотность кала зависит от большего или меньшего содержания в нем воды: при содержании 75% воды он плотен, при 85% — кашицеобразен, при 90% — жидок. Содержание воды стоит в связи с длительностью пребывания кала в кишечнике. При упорных запорах, когда испражнения особенно долго задерживаются в кишечнике, а также у истощенных больных, плохо питающихся, кал становится суше, тверже.

Обратное явление — уменьшение плотности — наблюдается при ускоренном прохождении пищи и при более или менее значительной трансудации (или же экссудации) в просвет кишечника. В этих случаях содержание воды увеличено и соответственно этому плотность кала меньше;



обычно в таких случаях кал выделяется неоформленный, кашицеобразный. Консистенция кашицеобразного кала может быть густой, полужидкой или совсем жидкой. Кашицеобразные испражнения при усиленных процессах брожения могут иметь пенистый характер. Нередко за одну и ту же дефекацию одновременно выделяются оформленные комки и жидкая кашица. При острых энтеритах, а также при холере кал теряет также кашицеобразную консистенцию и становится водянистым от обильной экссудации.

3) **Форма.** У здорового человека при смешанной пище кал бывает оформленный, имея чаще всего цилиндрическую форму. Цилиндрическая форма при пище, богатой растительными веществами, может уступать место неоформленному кашицеобразному калу. С увеличением плотности кал приобретает форму комков различной величины; на поверхности комков иногда видны перетяжки от *haustra* толстых кишок. В некоторых случаях комки бывают очень мелкие и имеют довольно правильную круглую форму; такой кал называют овечьим калом, так как он до известной степени его напоминает. Овечий кал наблюдается при спастических состояниях кишечника, упорном запоре, когда испражнения особенно долго задерживаются в кишечнике, у истощенных больных, плохо питающихся, нередко при карциномах. При спастическом состоянии сфинктера кал может иметь лентообразную форму.

4) **Цвет.** Цвет поверхностных и внутренних слоев может быть неодинаков, поэтому необходимо осматривать не только поверхность кала, но и внутренние слои. На цвет кала влияют эндогенные и экзогенные пигменты.

а) **Эндогенные пигменты.** Нормальные испражнения окрашены в коричневый цвет стеркобилином, представляющим собой восстановленный билирубин и по химическому составу тождественный с уробилином мочи. Стеркобилин образуется из билирубина желчи, поступающей в кишечник. Образование стеркобилина (т. е. восстановление билирубина) происходит в толстых кишках под влиянием жизнедеятельности бактерий.

Количество стеркобилина (уробилина) зависит от количества желчи, изливающейся в кишечник, и при различных патологических состояниях колеблется в широких пределах. При частичной или полной закупорке желчного протока стеркобилина может содержаться очень мало или же он может совершенно отсутствовать; такие испражнения, так называемые ахолические испражнения, имеют сероватый цвет (цвет глины). Для диагностики закупорки желчного протока отсутствие стеркобилина в кале, наряду с отрицательной реакцией мочи на уробилин при резко положительной реакции ее на желчные пигменты, имеет решающее значение. Увеличенному содержанию стеркобилина придают диагностическое значение как симптому повышенного процесса гемолиза (гемолитические анемии).

Когда прохождение пищи ускорено, билирубин не успевает восстановиться и появляется в кале в неизмененном виде; в таких случаях кал имеет яркожелтый или золотистожелтый цвет. Яркожелтый цвет кала характерен для энтеритов; у грудных младенцев он представляет физиологическое явление. Такой кал дает положительную реакцию на билирубин. Желчный пигмент может выделяться с калом и в виде биливердина (продукта окисления билирубина); участки, окрашенные биливердином, выделяются своим зеленым цветом. Биливердин сравнительно часто встречается в кале грудных младенцев при поносах; у взрослых он наблюдается гораздо реже и представляет патологическое явление невыясненного происхождения.



б) Экзогенные пигменты. На цвет кала влияет и потребляемая пища; так, например, при преобладании мясной пищи кал имеет темнокоричневый цвет, при чисто молочной пище — светложелтый. Более темный цвет кала при мясной пище обуславливается, с одной стороны, значительным содержанием дериватов кровяного пигмента, которыми так богата мясная пища, с другой — большей плотностью кала; светлый цвет кала при молочной пище обусловлен, кроме отсутствия дериватов кровяного пигмента, меньшей плотностью и относительно большим содержанием жира.

Ряд разнообразных пигментов вводится с растительной пищей, например, хлорофилл, обильно содержащийся в листьях салата, щавеля, шпината; красный пигмент различных ягод (вишен, смородины), свеклы и вина; темнокоричневый — кофе, шоколада, какао. Все эти пигменты сообщают калу соответствующую окраску.

Из изменений цвета, вызванных употреблением лекарственных веществ, чаще всего приходится сталкиваться с черной окраской от животного или древесного угля, черноватой или сероватой — от препаратов висмута, зеленовато-черноватой — от препаратов железа, беловатой или сероватой — после приемов глины или препаратов бария (рентгенологическое исследование), красноватой — от сантонина и ревеня и травянисто-зеленой — от препаратов каломеля, вызванной окислением билирубина в биливердин.

в) Патологические примеси. Гораздо большее значение, чем примесь экзогенных пигментов и лекарственных веществ, имеют различные примеси эндогенного происхождения, появляющиеся в патологических случаях. Из них первенствующее патологическое значение имеет примесь крови. В зависимости от количества излившейся крови, места кровотечения и большей или меньшей продолжительности ее пребывания в кишечнике, кал приобретает различную окраску. Если кровь выделяется не быстро и ее сравнительно много, то гемоглобин, превратившийся в желудочно-кишечном тракте в гематин, окрашивает кал в черновато-коричневый или черный цвет (дегтеобразный кал).

Неизмененная кровь (типично красного цвета) содержится в тех случаях, когда она выделяется быстро, что чаще всего бывает при кровотечениях из нижних отделов, но возможно и при обильном кровотечении в верхних отделах. В тех случаях, когда количество крови невелико, она при осмотре простым глазом либо остается совсем незамеченной, либо может быть только заподозрена и обнаружена лишь при помощи химических реакций, о которых речь будет ниже. Большие количества слизи и гноя могут сообщать калу сероватый или желтовато-сероватый оттенок.

5) Реакция. Реакцию кала определяют при помощи лакмусовой бумаги. Бумага должна быть чувствительной. Полоску красной и синей бумаги прикладывают к поверхности кала (неразведенного) и спустя 15—20 минут, т. е. когда бумага пропитается, отмечают реакцию. В норме реакция при смешанной пище нейтральная или слабо щелочная; при пище, богатой углеводами, — слабокислая. При патологических условиях, при усиленных процессах гниения реакция бывает резко щелочной, при усиленном брожении — кислой; ахолический кал также обычно имеет кислую реакцию.

При определении реакции очень важно удостовериться, что кал не содержит примеси мочи, так как под влиянием микроорганизмов кала в моче, примешанной к калу, очень быстро развивается аммиачное брожение и реакция становится резко щелочной.



6) **Запах.** Запах нормального кала зависит от присутствия скатола и индола — продуктов расщепления белков пищи; он резче при мясной пище, чем при растительной.

При усиленном брожении углеводов кал приобретает запах масляной или уксусной кислоты. При поносах испражнения нередко имеют гнилостный запах. При дизентерии и раке толстых кишок кал зловонный, и запах его напоминает запах падали.

Запах кала имеет определенное диагностическое значение в грудном возрасте. Нормальные испражнения грудных младенцев не имеют почти никакого запаха. Всякий дурно пахнущий кал у грудного младенца — явление патологическое.

## 2. Отдельные составные части

В нормальных испражнениях уже простым глазом почти всегда бывают видны остатки непереваренной пищи, особенно растительной, трудно перевариваемой, в которой питательные вещества заключены в непроницаемую оболочку из клетчатки.

В жидком кале они обнаруживаются без предварительной обработки; плотный же и кашицеобразный кал необходимо развести водой.

Ввиду неоднородности каловых масс, очень важным моментом является выбор подходящего материала. Желательно поступать следующим образом: отобрав для исследования видимые простым глазом примеси, тщательно перемешивают всю остальную массу кала толстым деревянным шпателем и, отделив часть для химических исследований (на кровь, уробилин и т. д.), выкладывают остальное количество кала в фарфоровую ступку, чашку или тарелку. Затем, приливая водопроводную воду небольшими порциями, растирают его до консистенции жидкой кашицы. Полученную кашицу переливают в черную лакированную тарелку, фотографический лоточек или в чашку Петри, поставленную на черную бумагу. В этой кашице легко обнаружить простым глазом пищевые остатки, патологические продукты кишечной стенки и различные другие примеси.

1) **Пищевые остатки.** Из пищевых остатков встречаются пучки мышечных волокон, обрывки соединительной ткани, остатки жира и остатки растительной ткани (кусочки картофеля). Описание их и диагностическое значение см. «Микроскопическое исследование».

2) **Патологические продукты кишечной стенки.** а) Слизь чаще всего встречается в виде хлопьев неопределенной формы, различной величины и в виде комочков, имеющих пластинчатое или хлопьевидное строение. В тонком слое они на белом фоне прозрачны, беловатого цвета, на черном — темнее окружающей жидкости. Они вязки, тягучи, легко распластываются между предметным и покровным стеклом; разделить их на частицы иглой или лучинкой удастся лишь с большим трудом. Слизь может встречаться также в виде мелких хлопьев, тесно смешанных с калом, окрашенных билирубином в желтый цвет, в виде пленки на поверхности каловых масс и, наконец, в обильном количестве почти без элементов кала. Иногда слизь выделяется в виде длинных беловатых лентообразных пленок. По внешнему виду они до некоторой степени напоминают ленточных червей, но легко отличаются от них тем, что не состоят из члеников. Такие пленки обыкновенно выделяются при сильном натуживании.

б) **Мукоидные комочки** — комочки коричневого цвета, обладающие лишь незначительной вязкостью в отличие от хлопьев слизи и легко



поддающиеся разделению на части. Под микроскопом они представляют скопление бактерий, иногда как бы в чистой культуре.

**Диагностическое значение.** Слизь встречается при катаральных состояниях и язвенных процессах в кишечнике. Мелкие хлопья, окрашенные билирубином в желтый цвет, могут служить указанием на поражение тонких кишок; хлопья слизи на поверхности толстых кишок — на заболевание нижнего отрезка толстых кишок и прямой кишки. Обильное выделение слизи указывает на то, что воспалительным процессом поражен не только покровный, но и более глубокий слой.

Лентообразные пленки характерны для особой формы хронического катарра толстых кишок, который носит название *colica mucosa s. colitis membranacea* (пленчатый или перепончатый колит). Раньше, когда с хроническими запорами боролись путем применения клизм, они встречались сравнительно часто. В настоящее время, когда этот способ лечения оставлен, они наблюдаются редко.

Диагностическое значение мукоидных комочков то же, что и хлопьев слизи: они сопутствуют колитам и встречаются чаще, чем хлопья слизи.

в) **Кровь.** Примесь крови к калу не всегда легко распознать, так как при длительном пребывании в кишечнике гемоглобин приобретает коричневую окраску (см. выше). Неизмененную кровь чаще всего находят при язвенных поражениях толстых кишок (дизентерия, язвенный колит, геморрой); в таких случаях она обычно смешана со слизью. При хронических запорах кровь иногда видна на поверхности плотных каловых масс в виде тонкой пленки.

г) **Гной** встречается иногда в жидких и кашицеобразных испражнениях в виде комочков серовато-беловатого цвета. Комочки эти необходимо подвергать микроскопическому исследованию, так как простым взглядом их трудно отличить от хлопьев слизи. Чистый гной выделяется при прорыве параинтестинальных абсцессов в толстые кишки; при хронической дизентерии также могут выделяться гнойные комочки.

д) **Тканевые обрывки** могут наблюдаться при дизентерийных язвенных процессах, а также при злокачественных новообразованиях. Если имеется малейшее подозрение на злокачественное заболевание, тканевые обрывки необходимо подвергать гистологическому исследованию.

3) **Паразитические черви.** Острицы, аскариды, членики ленточных глист видны при осмотре простым глазом. Для отыскания мелких гельминтов применяется специальная обработка (см. ниже).

4) **Желчные и кишечные камни (конкременты).** В кале могут встречаться желчные камни, камни поджелудочной железы и собственно кишечные камни. Иногда они видны при простом осмотре кала. Если в кале, направленном для исследования на присутствие камней, они не видны, то поступают следующим образом. Весь доставленный кал выкладывают в мелкопетлистое сито и осторожно поливают тонкой струей воды, пока он не размоется и на поверхности сита не останутся только крупные частицы, среди которых нетрудно обнаружить камни. Можно поступать и несколько иначе: выложить кал на кусок марли, затем марлю сложить мешочком и обвязать его шнурком, завязав шнурок не узлом, а петлей (чтобы легко было развязать); марлевый мешочек положить в стакан или баночку и пустить в нее слабую струю водопроводной воды. Объем кала при промывании постепенно уменьшается; с помощью пестика или палочки отжимают содержимое мешочка. Промывание оканчивают, когда начнет сбегать чистая вода. Тогда мешочек вынимают, развязывают и расстилают в плоском сосуде. (Исследование камней см. главу шестую.)



## МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Микроскопическая картина отражает переваривание трех основных элементов пищи: белков, жиров и углеводов. О переваривании белковых веществ можно судить по количеству и характеру остатков мяса, о переваривании жиров — по количеству нейтрального жира, жирных кислот и мыл, о переваривании углеводов — по присутствию крахмала.

### А. Методика исследования

Из эмульсии кала, приготовленной, как описано выше, готовят препараты, кладя маленькую частицу кала (тоненькой деревянной лучинкой) на предметное стекло и покрывая ее покровным. Если испражнения жидки или кашцеобразны, то для приготовления препарата просто берут маленькую каплю; если они очень жидки, то приходится прибегать к центрифугированию; в таких случаях микроскопируют осадок.

Для обработки микроскопических препаратов чаще всего применяются следующие реактивы.

1. Раствор Люголя для окраски крахмала и некоторых микроорганизмов следующего состава: иода — 1 г, иодистого калия — 2 г, воды дистиллированной — 50 см<sup>3</sup>; воду сначала приливают по каплям и, лишь когда иод растворится, добавляют остальное количество.

2. Раствор судана III для окраски жира: спирта 96° — 10 см<sup>3</sup>, уксусной кислоты ледяной или 80% — 90 см<sup>3</sup>, судана III — около 2 г (на-глаз до получения яркокрасного цвета).

3. Уксусная кислота, разведенная в 3—4 раза, для дифференцирования клеточных элементов, а также жиров.

4. Нильская синь — насыщенный водный раствор — также для дифференцирования жиров.

5. Серная кислота, разведенная в 3—4 раза.

6. Реактив Гмеллина или Фуше (см. «Моча», «Желчные пигменты») для дифференцирования желчных пигментов.

7. Физиологический раствор поваренной соли для приготовления нативного препарата при исследовании на простейшие и т. д.

8. Краска Романовского-Гимза или азур-эозин для дифференцирования лейкоцитов.

Обычно готовят: 1) нативные препараты, т. е. препараты без дальнейшей обработки; таких препаратов желательно просмотреть не один, а 3—4; 2) препарат, обработанный реактивом Люголя: на частицу кала, положенную на предметное стекло, наливают 1—2 капли реактива, тщательно размешивают деревянной лучинкой и покрывают покровным стеклом; 3) препарат, обработанный раствором судана III и приготовляемый так же, как предыдущий. Обработка остальными реактивами применяется по мере надобности.

### Б. Отдельные составные части

Микроскопическую картину каловых масс составляют: 1) пищевые остатки; 2) элементы, происходящие из кишечника; 3) кристаллические образования; 4) детрит.

Кроме того, при микроскопическом исследовании обнаруживаются примеси лекарственного происхождения — кристаллические и аморфные, а также мелкие гельминты и яйца гельминтов.

1) Пищевые остатки (рис. 218). а) Мышечные волокна. Остатки мясной пищи в виде пучков мышечных волокон видны иногда простым



глазом. Они представляются в виде мелких кусочков, более или менее интенсивно окрашенных, в зависимости от поступления желчи в кишечник. При микроскопическом исследовании остатки мышечных волокон встречаются во всяком препарате, даже при пище, бедной мясом. Хорошо переваренные, они имеют вид овальных обломков различной величины, в которых исчерченности не видно; в не вполне переваренных волокнах сохранена поперечная и продольная исчерченность. Первые окрашены в желтый цвет, вторые могут быть и коричневатого цвета. При недостаточном поступлении желчи мышечные волокна не имеют обычной желтой окраски и представляются бледными. Величина остатков мышечных волокон очень различна: они могут быть очень мелкие, в виде небольших кругловатых образований или же достигать значительной длины — в несколько полей зрения. Контуры мелких, хорошо переваренных обломков закруглены; более крупные, не вполне переваренные имеют угловатые очертания; наконец, у крупных, плохо переваренных контуры резко очерчены и форма их напоминает первоначальную форму мышечного волокна.

В патологических случаях находят многочисленные плохо переваренные волокна, которые лежат частью изолированно, частью в виде пучков, достигающих нередко такой величины, что они видны при макроскопическом осмотре.

Переваривание мышечных волокон происходит главным образом под влиянием сока поджелудочной железы, и потому присутствие большого количества непереваренных волокон надо считать указанием на недостаточную функцию поджелудочной железы. Желудочное же пищеварение имеет при этом лишь косвенное значение: желудочный сок, переваривая соединительную ткань, окутывающую мышцы, разъединяет мышечные волокна и тем самым делает их более доступными действию трипсина. Таким образом, большое количество мышечных волокон (креаторрея) может быть следствием: 1) недостаточной секреции соляной кислоты в желудке, 2) недостаточной секреции панкреатического сока; наконец, 3) оно может наблюдаться и при патологически ускоренном прохождении пищевой кашицы.

Следует, однако, принимать во внимание, что для переваривания мяса имеет также большое значение способ его приготовления (жареное мясо усваивается труднее вареного), а также состояние жевательного аппарата у больного.

б) Соединительная ткань (рис. 219, 220 и 221) при недостаточном тщательном выборе материала нередко не обнаруживается; если же размешать кал в воде, то легко выловить мелкие хлопья или обрывки. Под микроскопом они определяются по волокнистому строению; от слизи, с которой их можно смешать, они отличаются более резкими очертаниями, более плотной консистенцией, непрозрачностью и микрохимической реакцией с уксусной кислотой: в соединительной ткани после прибавления уксусной кислоты структура исчезает, в слизи появляется слоистость и исчерченность. Соединительную ткань можно смешать также с остатками растительной пищи. От последних ее можно отличить при помощи ксантопротеиновой реакции: к нативному препарату прибавляют 1—2 капли крепкой азотной кислоты и нагревают; соединительная ткань в отличие от растительных остатков окрашивается в желтый цвет.

При употреблении в пищу сырого или плохо прожаренного мяса наличие соединительной ткани — явление физиологическое.

Появление ее после употребления хорошо измельченного и прожаренного мяса обусловлено теми же моментами, что и появление большого количества мышечных волокон (см. выше).



в) Жир (рис. 222, 223, 224 и 225) — нормальная составная часть кала — встречается в испражнениях в виде нейтрального жира, жирных кислот и мыл (кальциевых и магниевых солей жирных кислот). Нейтральный жир в неокрашенном препарате обычно имеет вид бесцветных



Рис 219. Соединительная ткань, видимая простым глазом.

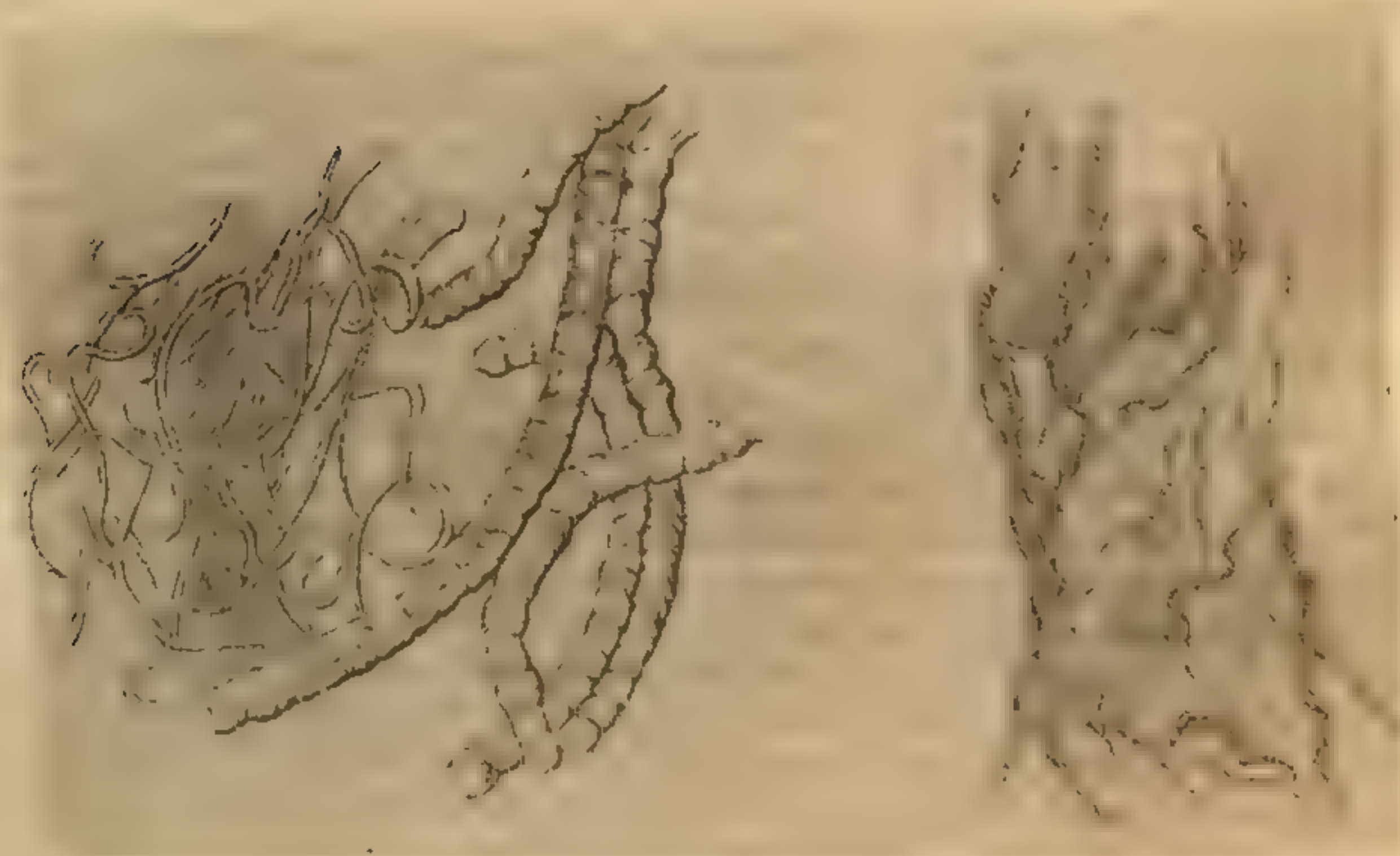


Рис. 221. Эластические волокна в соединительной ткани изолированные.

круглых капель и глыбок различной величины. Иногда капли имеют неправильную удлинённую форму и окрашены в желтоватый цвет.

Жирные кислоты встречаются: 1) в виде длинных нежных игл — кристаллов с заостренными концами, иногда образующих пучки; 2) в виде глыбок; 3) в виде капель различной величины. Капли жирных кислот.





Рис. 218. Мышечные волокна, сохранившие и утратившие исчерченность (1—3), сосуды растений (4), известковые мыла (5).

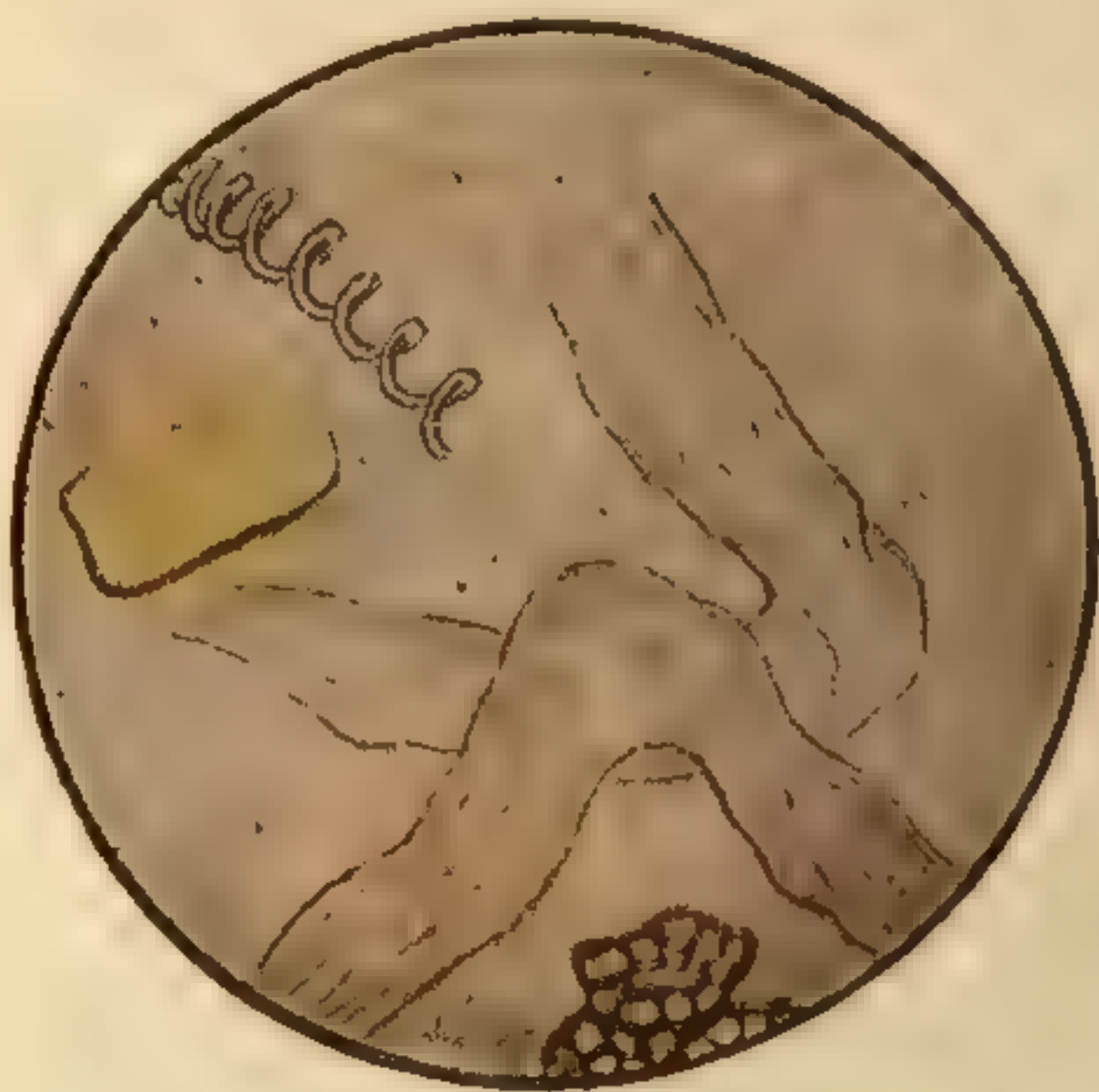


Рис. 220. Соединительная ткань, спирали сосудов и другие элементы.

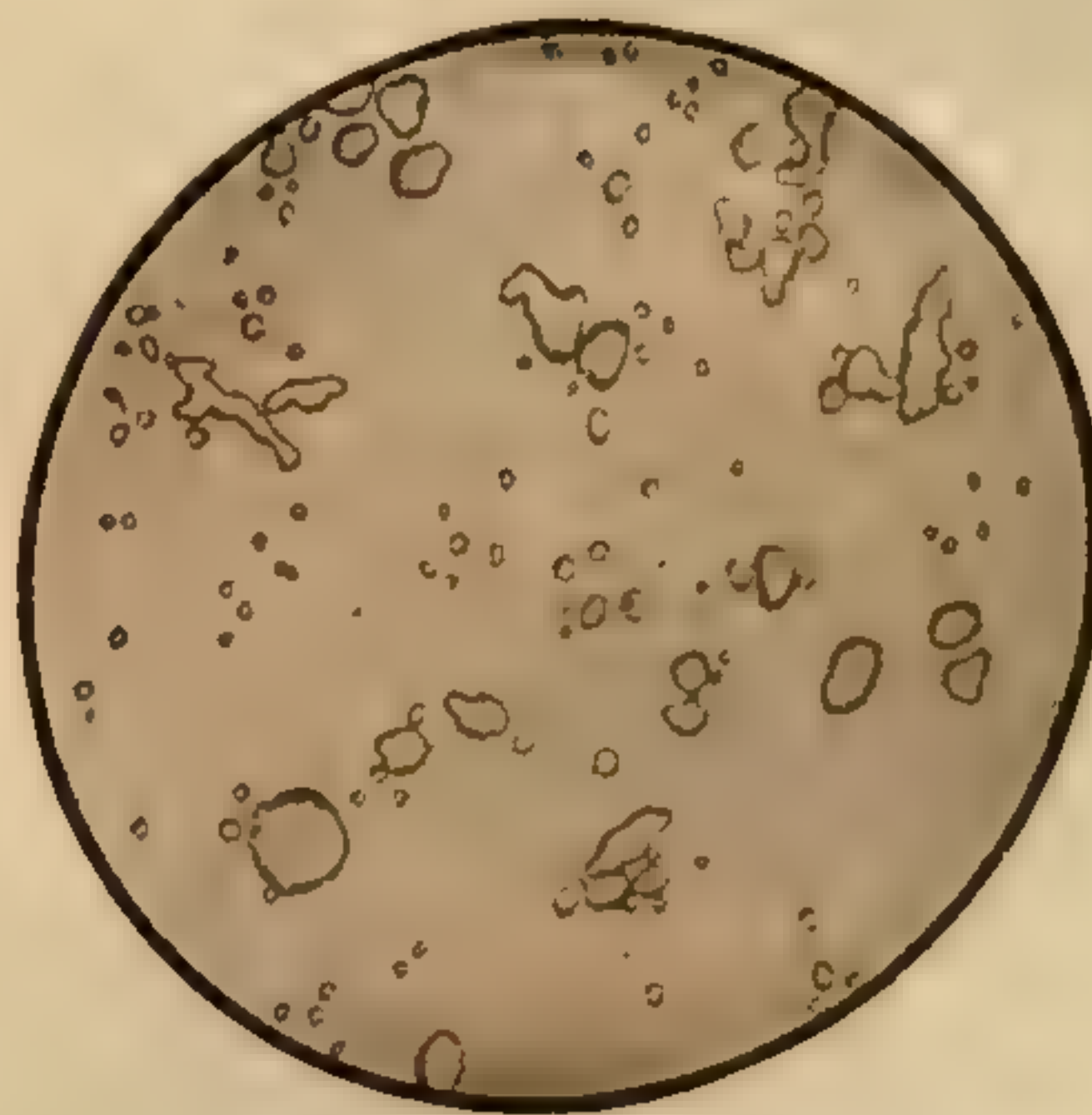


Рис. 222. Капли нейтрального жира различной величины и формы.







отличаются от капель нейтрального жира тем, что из них нередко (но не всегда) по периферии выступают, как бы торчат, иглы — шипы. Мыла встречаются в виде кристаллов и глыбок. Кристаллы их похожи на кристаллы жирных кислот, но они короче и чаще образуют пучки.

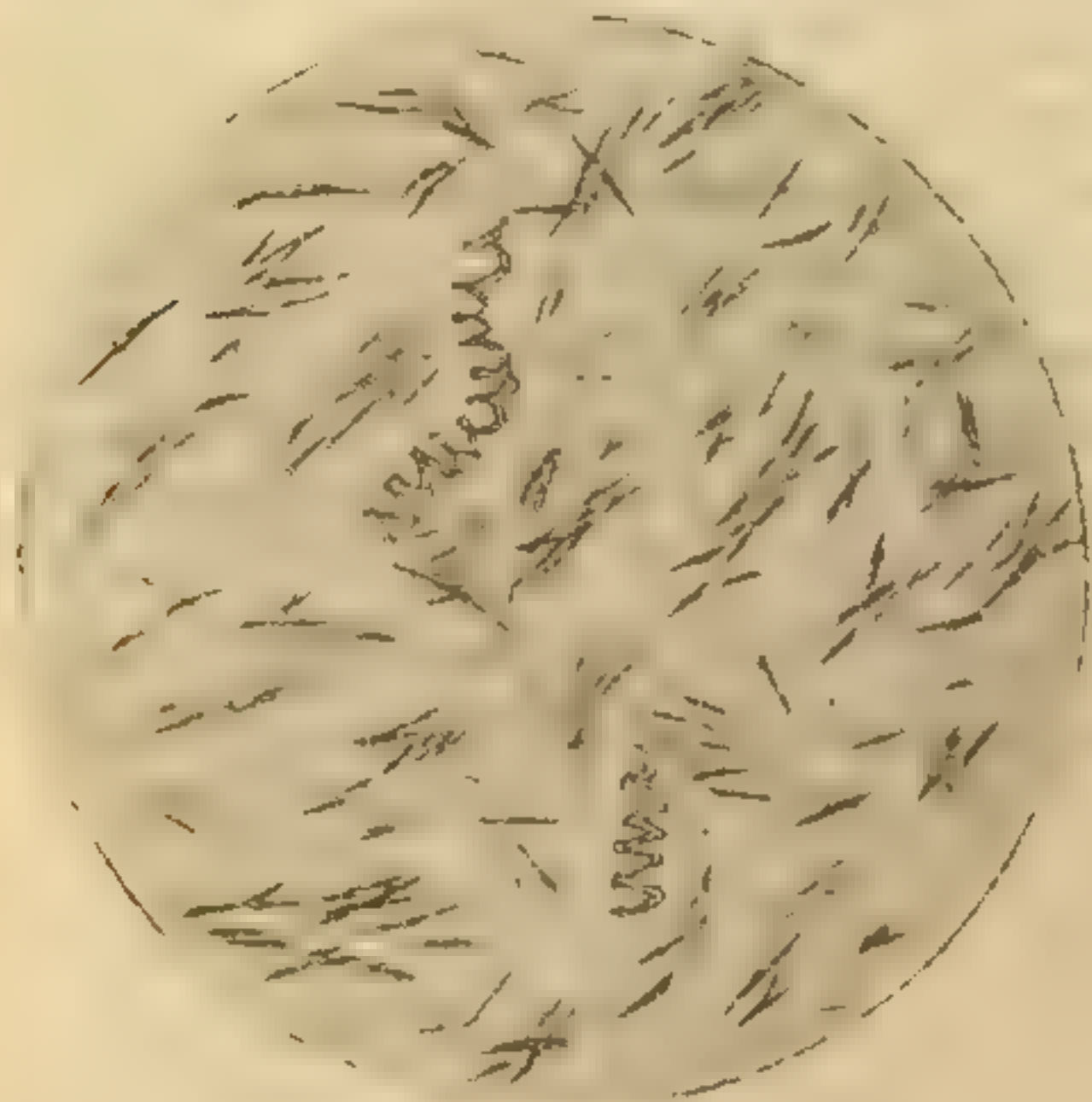


Рис. 223. Кристаллы (иглы) жирных кислот и два обрывка спиральных сосудов растений.

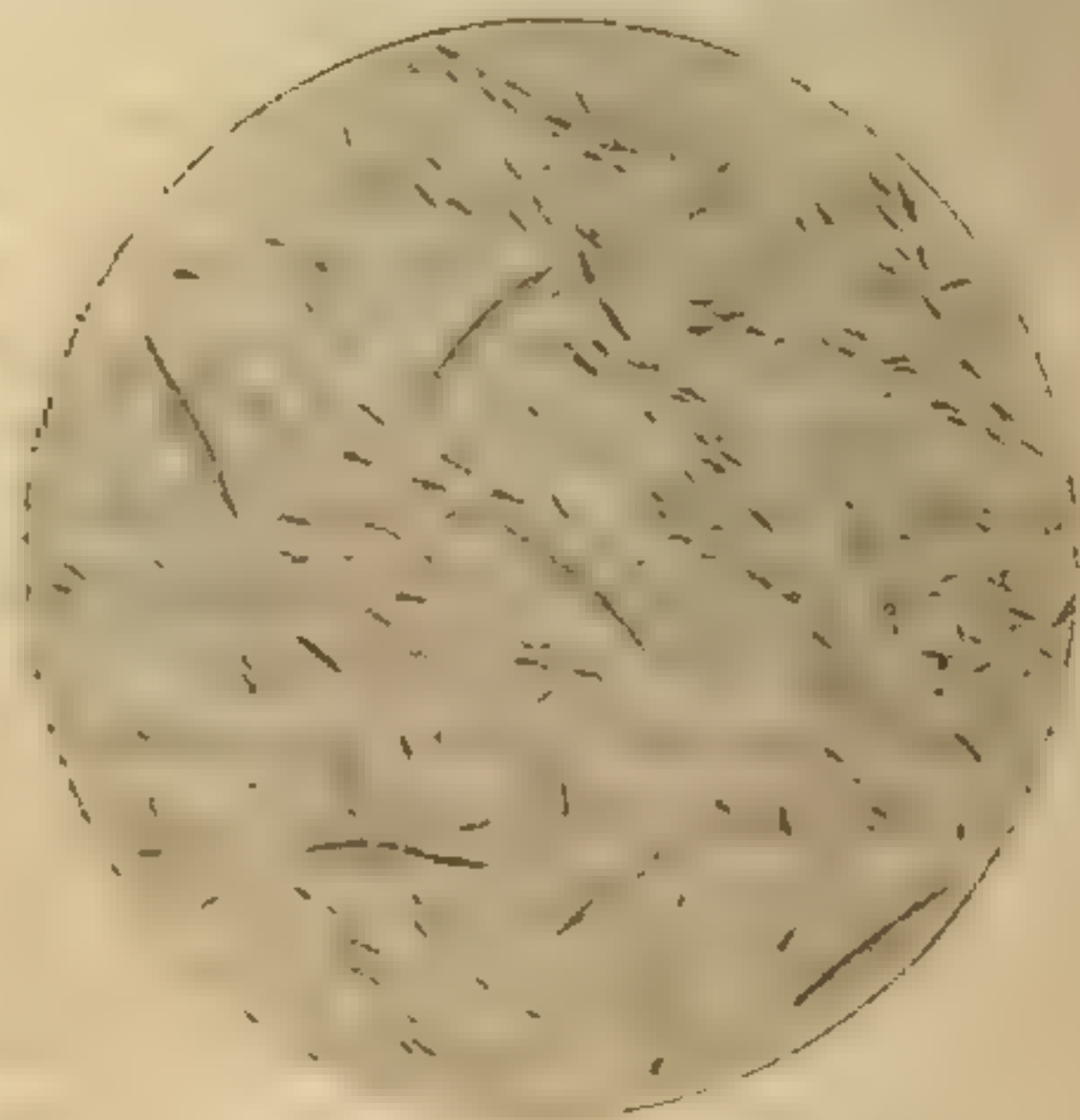


Рис. 224. Мыла жирных кислот (мелкие кристаллы) и кристаллы Шарко-Лейдена (крупные кристаллы).

Таким образом, форму капель могут иметь нейтральный жир и жирные кислоты; форму глыбок — нейтральные жиры, жирные кислоты и их мыла; форму игл — жирные кислоты и мыла. Для их дифференцирования лучше всего пользоваться микрохимическими реакциями. Проводят обычно 5 реакций. Наиболее важной является реакция с суданом III, который окрашивает жир в красный цвет.

1. Окраска суданом (техника была описана выше). При этом в красный цвет окрашиваются нейтральный жир и жирные кислоты, мыла же окраски не воспринимают.

2. Нагревание нативного препарата служит для дифференцирования кристаллов жирных кислот. Нагревание надо производить на слабом пламени, проще всего над зажженной спичкой. При нагревании глыбки нейтрального жира и жирных кислот, а также иглы жирных кислот плавятся, образуя капли. Отдельные мелкие капли могут сливаться в капли большей величины. Мыла при нагревании не плавятся. При остывании препарата капли теряют свою круглую форму и вновь образуют глыбки; при этом из капель жирных кислот могут образоваться и иглы. Процесс остывания происходит довольно быстро, описанные изменения могут быть прослежены в короткое время под микроскопом. Нагревание с тем же результатом можно повторять несколько раз.

3. Нагревание с раствором судана III: к нативному препарату прибавляют одну каплю раствора судана III и, размешав препарат, нагревают его до начала кипения. Так как раствор судана содержит

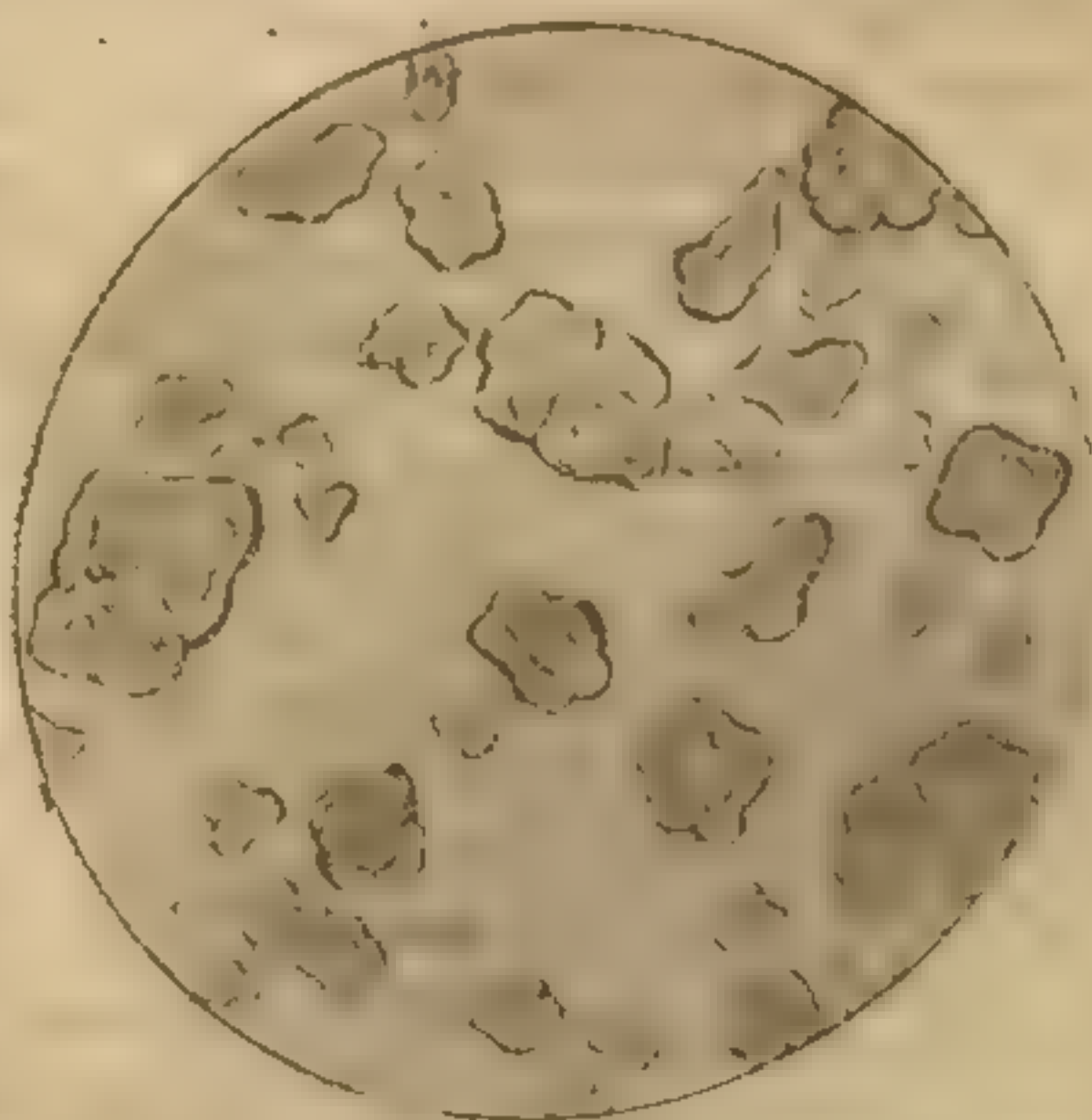


Рис. 225. Мыла жирных кислот в форме глыбок.



уксусную кислоту, то мыла при этом расщепляются, освобождая жирные кислоты; последние плавятся, образуя капли, и весь жир в препарате представляется в виде капель, окрашенных в красный или оранжевый (иногда даже желтый) цвет. Такой препарат дает возможность оценить общее содержание жира.

После остывания препарата жирные кислоты обычно выкристаллизовываются, принимая вид игл. Это не всегда наблюдается после первого нагревания, но после второго-третьего нагревания это происходит почти всегда; нейтральный жир кристаллов не дает.

За неимением судана III можно нагревать препарат с уксусной кислотой; при этом весь жир также представляется в виде капель с той разницей, что эти капли бесцветны.

4. Окраска нильской синью: к маленькой частице кала на предметном стекле прибавляют 1—2 капли краски, быстро и тщательно смешивают и покрывают покровным стеклом. Смотреть нужно тотчас же, так как окраска быстро исчезает. Нейтральные жиры окрашиваются в розовый цвет, а жирные кислоты — в синий.

5. Нагревание с серной кислотой: к нативному препарату прибавляют одну каплю разведенной серной кислоты и нагревают; при наличии кальциевых мыл через 15—20 минут после охлаждения выпадают кристаллы гипса (сернокислого кальция). Этим способом, следовательно, можно пользоваться для установления присутствия кальциевых солей жирных кислот.

Выделение значительного количества жира с фекалиями носит название стеаторреи. Кал, богатый жиром, имеет своеобразный блеск, сероватую окраску и консистенцию, сходную с консистенцией глины.

Из пищеварительных соков, влияющих на переваривание и усвоение жира, главную роль играет панкреатический сок и желчь. Под влиянием щелочной реакции желчи и панкреатического сока жиры эмульгируются, после чего действием липазы поджелудочного сока расщепляются на глицерин и жирные кислоты. Глицерин растворим в воде и, следовательно, может всасываться непосредственно. Жирные кислоты нерастворимы; чтобы их всасывание было возможно, они должны быть переведены в растворимое состояние. Последнее достигается действием желчных кислот, с которыми жирные кислоты образуют растворимые соединения.

Таким образом, при выпадении секрета поджелудочной железы жиры не расщепляются и кал содержит много нейтрального жира, при непоступлении желчи жирные кислоты, образовавшиеся из нейтрального жира действием панкреатической липазы, не всасываются, и кал содержит много жирных кислот и мыл.

У детей наблюдается особая форма поражения кишок, при котором в испражнениях бывает масса жира. Это жировая диспепсия — упорный понос, излечиваемый исключительно пищей, бедной жирами.

При тяжелых поносах кал иногда содержит беловатые мягкие комочки, состоящие из нейтрального жира, кристаллов жирных кислот и мыл. В исключительных случаях — при тяжелом поражении поджелудочной железы — выделяются жидкие нейтральные жиры, которые на воздухе застывают и обволакивают кал как бы коркой.

При нахождении жидкого жира, вернее, масла, нужно помнить, что после масляной клизмы масло выделяется в течение нескольких дней.

К оценке усвоения жиров нужно подходить с осторожностью. Жиры выделяются в небольшом количестве даже при голодании. При нормальном потреблении жира (около 100 г в сутки) он усваивается хорошо



и с калом выделяется лишь незначительная его часть. Когда содержание жира в пище превышает верхнюю границу нормы, соответствующую приблизительно 200 г масла, количество его в кале резко повышается (особенно у детей). Большое значение для усвоения имеет также род употребляемых жиров: жиры с низкой точкой плавления (коровье и прованское масло, рыбий жир, свиное сало) усваиваются хорошо, жиры с высокой точкой плавления (баранье сало) — плохо. Способ приготовления пищи, конечно, также имеет значение.

г) Свернувшийся белок. При поносах, особенно у детей при чисто молочной диете, в испражнениях находят особые кругловатые тельца, часто окрашенные желчью, величиной от чечевицы до горошины. Это свертки казеина. При прижимании покровного стекла к предметному они легко раздавливаются, причем представляются совершенно бесструктурными как при макроскопическом, так и при микроскопическом исследовании. У грудных детей встречаются еще макроскопически мало отличающиеся от указанных телец комочки, состоящие из скопления жирных кислот и бактерий, заложенных в слизи.

д) Остатки растительной пищи. Растительная клетчатка. Обрывки растительной клетчатки, иногда довольно крупные, видимые простым глазом, встречаются как в нормальных, так и в патологических испражнениях. Благодаря своим резким очертаниям эти обрывки, а также отдельные растительные клетки и волокна легко распознаются даже малоопытным глазом. Единственная животная ткань, которая иногда может дать повод к смешению, — это соединительная ткань, о чем было сказано выше.

Клетчатка (целлюлоза) ферментами желудочно-кишечного тракта человека не переваривается. Частичное расщепление ее, происходящее в начальном отделе толстых кишок, является результатом жизнедеятельности бактерий.

Так как в пищу человека входит очень много разнообразных овощей, ягод, плодов, то остатки растительной пищи чрезвычайно многообразны. Наиболее характерны: а) большие кругловатые клетки картофеля с губчатым строением; в норме эти клетки не должны содержать крахмала и, следовательно, не должны окрашиваться раствором Люголя (см. ниже «Крахмал»); б) сосуды растений — резко очерченные, сильно преломляющие свет извитые спирали; в) остатки бобовых растений — скопления очень узких, длинных, параллельно лежащих клеток (так называемые палисадные клетки); г) каменистые клетки груш и некоторых других плодов и овощей — сравнительно небольшие кругловатые или полигональные клетки с радиальной исчерченностью, большей частью окрашенные в коричневый цвет. Они отличаются необычайной твердостью и при надавливании покровного стекла хрустят, как песок. Нередко они настолько толсты, что наложить покровное стекло не удается и для приготовления препарата приходится выбирать частицы кала, не содержащие таких клеток.

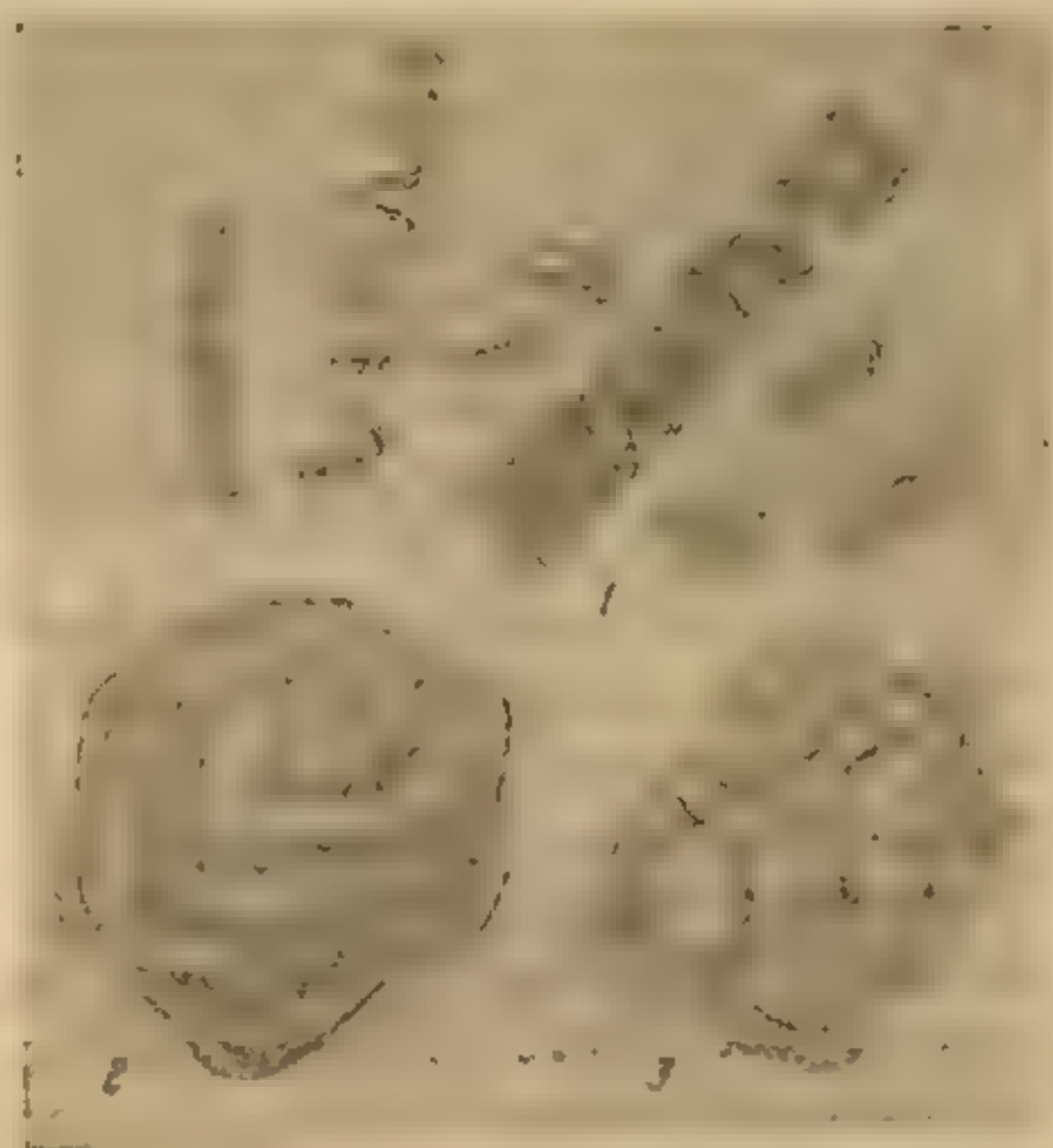


Рис. 226. Клетки картофеля пустые и наполненные (2 и 3). Сосуды растений (спирали, кольца) (1).



е) Крахмал (рис. 227). Может встречаться сырой и вареный крахмал. Сырые крахмальные зерна с характерной концентрической слоистостью находят редко. Величина их различна, форма круглая или овальная.



Рис. 228. Клетчатка банана (наверху); крахмальные зерна кукурузы, риса, клетки бобов (слева внизу).

Чаще находят вареные крахмальные зерна, которые уже утратили свою первоначальную форму и имеют вид неправильных обломков и не содержат слоистости. Они встречаются и в виде отдельных зерен, но чаще заключены в растительных клетках картофеля, бобов и других овощей. Дифференцировать крахмал легко, так как он окрашивается раствором Люголя в синий цвет, если он не изменен, и в фиолетовый или красноватый, если он частично переварен. Окраска появляется иногда не сразу. Для окраски необходимо применять

крепкий раствор Люголя, пропись которого приведена выше. При обычной смешанной пище крахмал встречается в ничтожном количестве. Большое количество обычно наблюдается при поражениях тонких кишок, вызывающих быструю эвакуацию кишечного содержимого, и лишь в редких случаях это явление бывает следствием недостаточной функции поджелудочной железы. Форму крахмальных зерен разных злаков см. рис. 227—232.

2) Морфологические элементы кишечной стенки. а) Эпителий плоский из заднепроходного отверстия. Плоскоэпителиальные клетки имеют характерную для них полигональную форму и маленькое ядро. Они могут лежать поодиночке или в виде небольших пластов; встречаются как при некоторых заболеваниях (проктит), так нередко и в нормальных испражнениях, особенно при хронических запорах. Повидимому, они при этом механически сдираются каловыми массами со слизистой оболочки заднепроходного отверстия. Нахождение их не имеет диагностического значения.

б) Эпителий цилиндрический (рис. 233). Встречаются хорошо сохранившиеся клетки типичной цилиндрической формы с ясно контурированным ядром и клетки измененной формы различной величины и дегенерации.

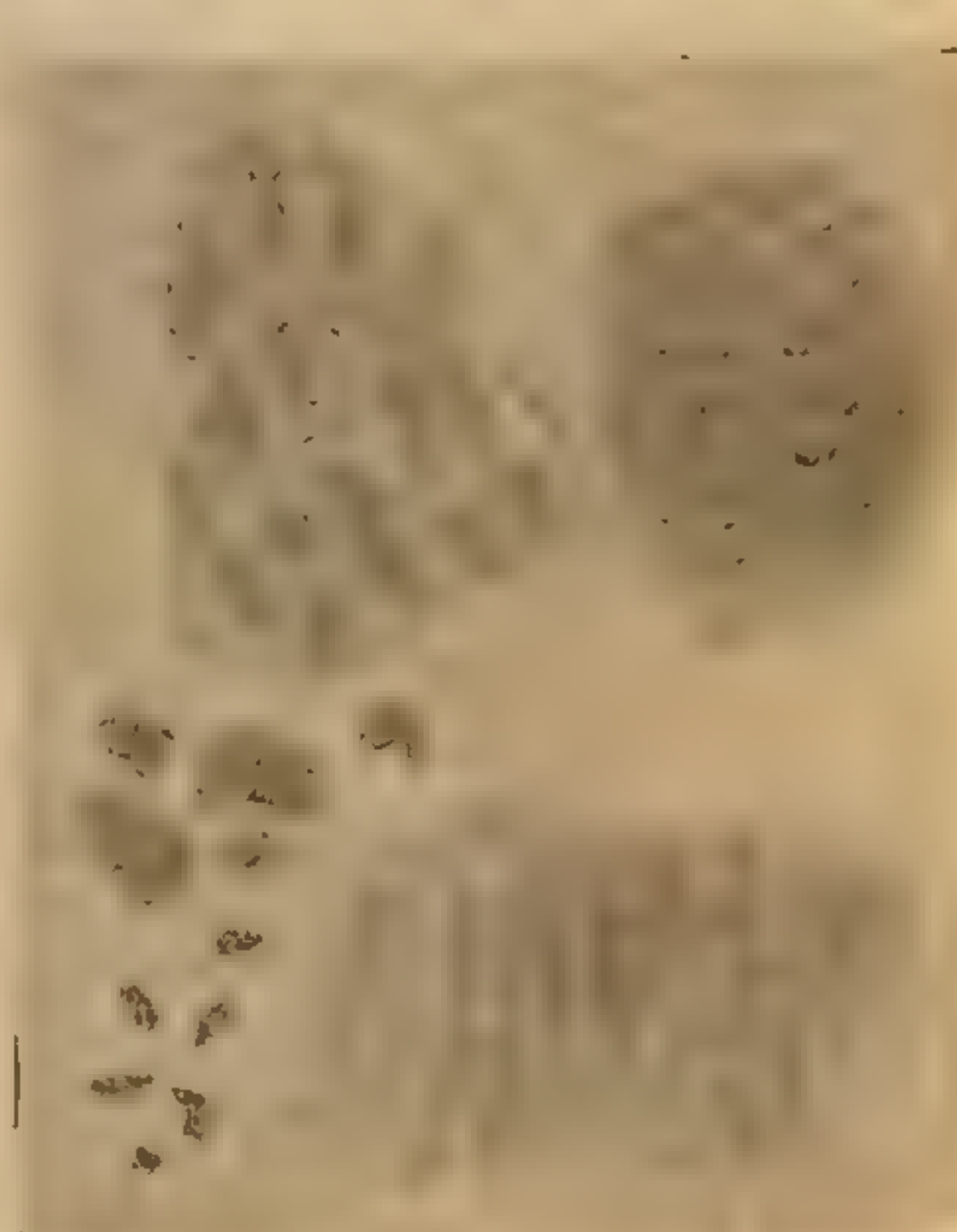


Рис. 231. Клетчатка различных овощей, остатки какао, пигмент моркови.



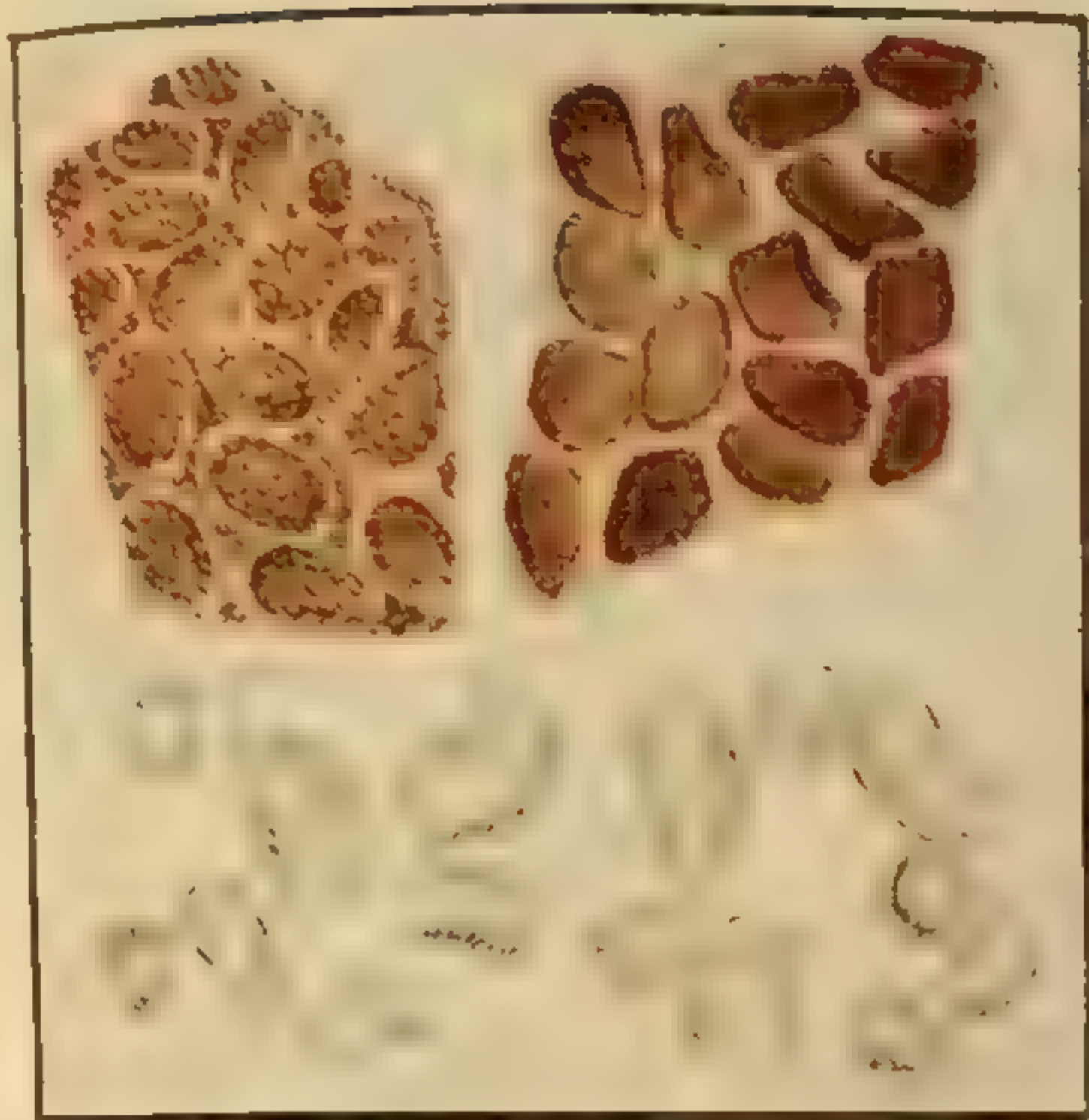


Рис. 227. Крахмальные зерна картофеля и клетки эпидермиса злаков.

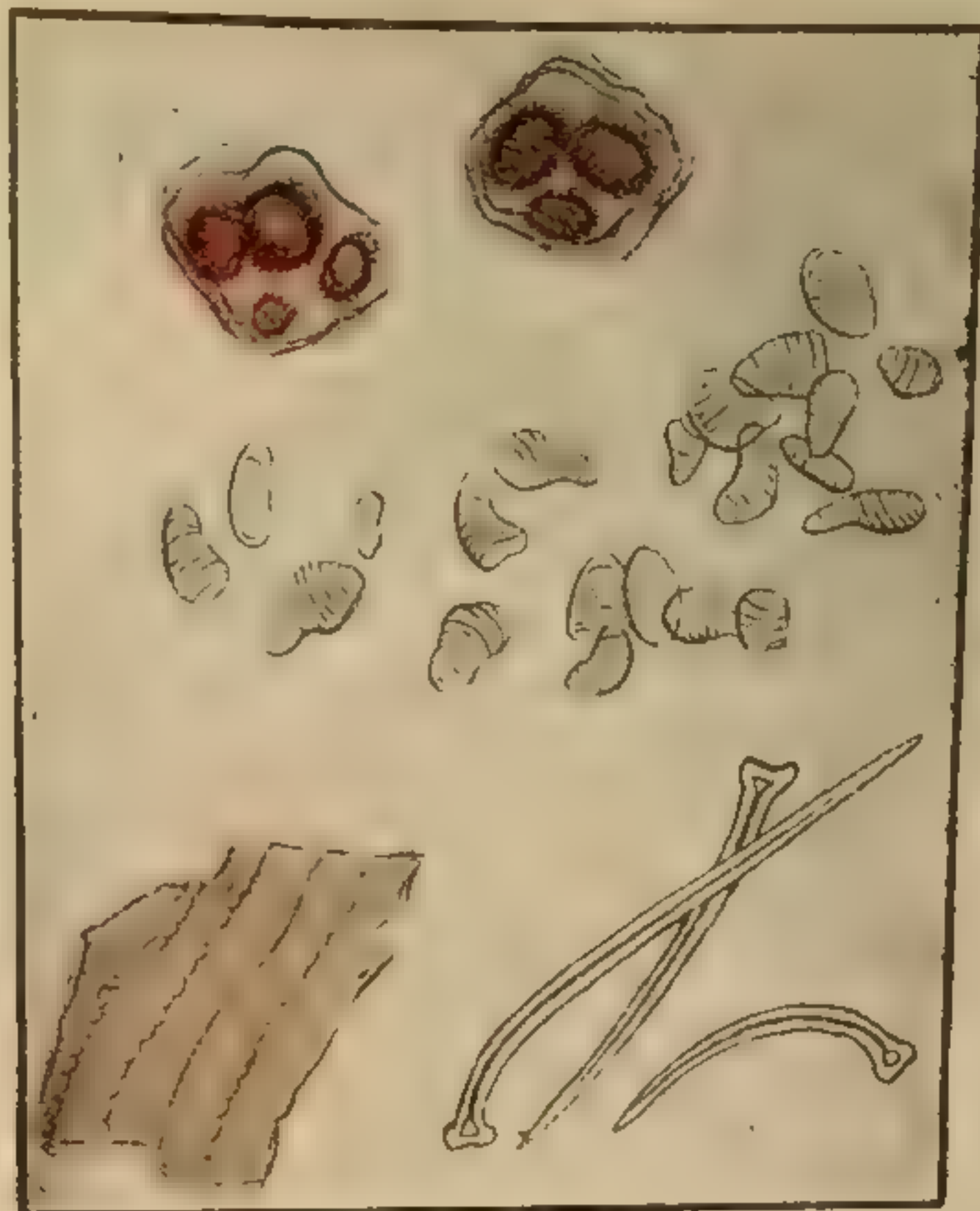


Рис. 229. Споры сморчка, крахмальные зерна банана, клетки растительного эпидермиса, волоски растений.



Рис. 230. Клетчатка различных злаков.

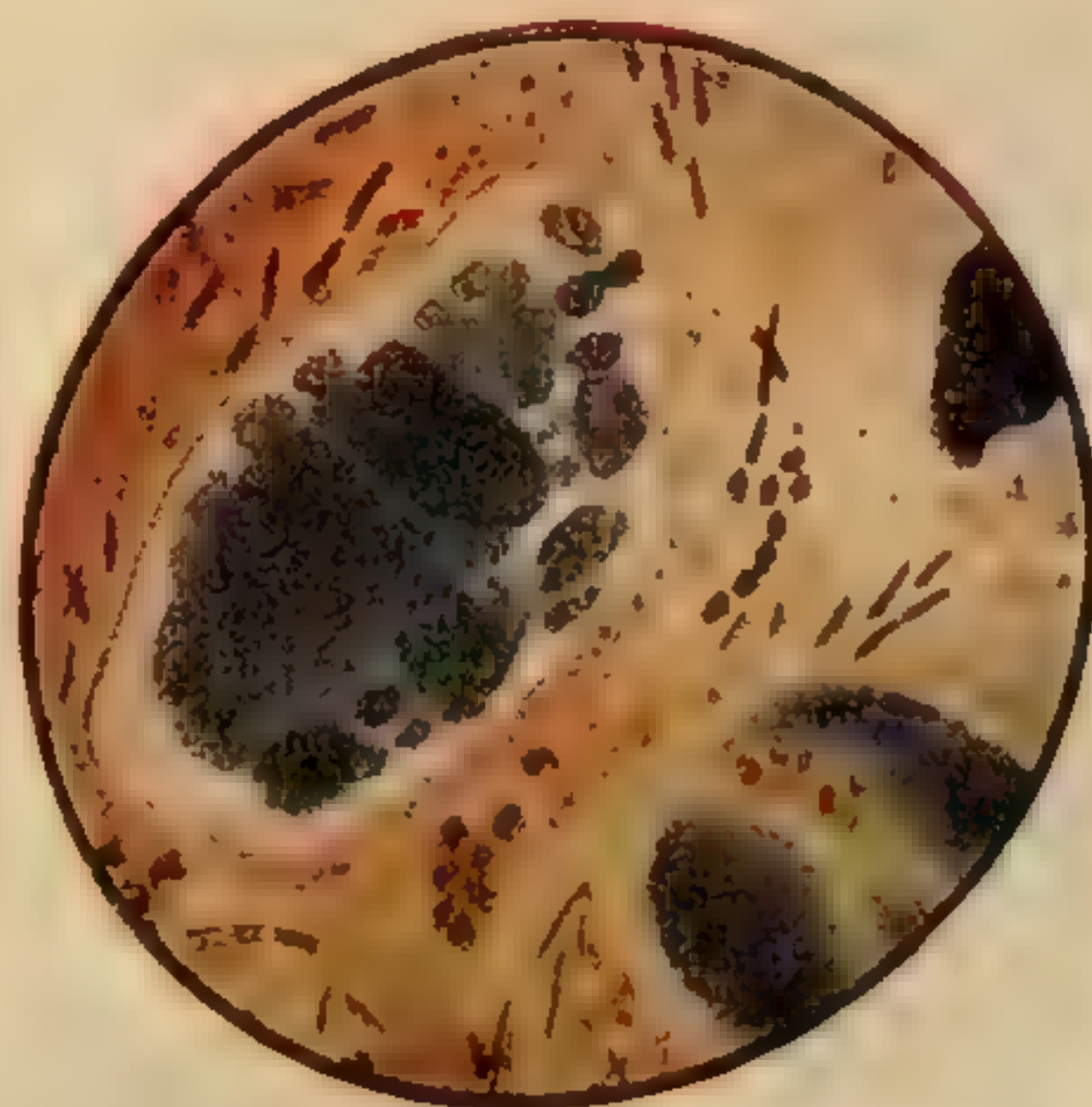


Рис. 232. Бродильный катарр: картофельные клетки, наполненные крахмальными зернами, подофильная флора. Обработка раствором Люголя.



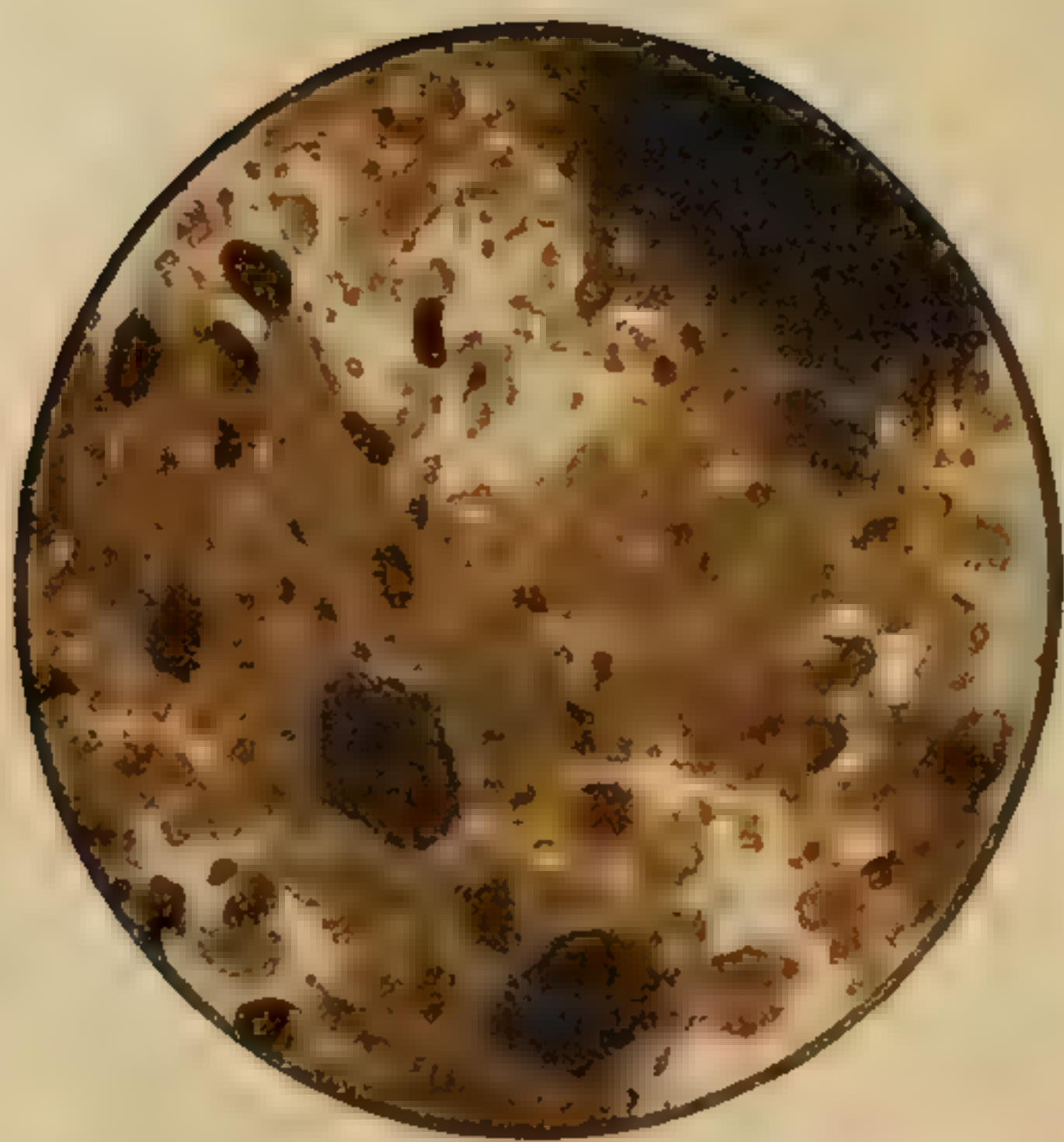


Рис. 234. Кровяной распад в каловых массах. Увеличение в 400 раз.



Рис. 235. Кристаллы висмута.



Рис. 236. Частицы угля.



В некоторых случаях эпителий кишок подвергается своеобразному изменению — так называемому глыбчатому перерождению: клетки уменьшены, сморщены, имеют вид матовых веретен, восковидны, иногда даже безъядерны. Указанные изменения вызваны пропитыванием протоплазмы клеток мылами.

Клетки цилиндрического эпителия обыкновенно заложены в слизи. Цилиндрический эпителий может происходить из всех отделов кишечника. В небольшом количестве он может встречаться и в нормальных испражнениях. Значительное количество его (притом группами) указывает на катарральное состояние слизистой оболочки кишок.

Глыбчато перерожденные клетки встречаются только в слизи из толстых кишок.

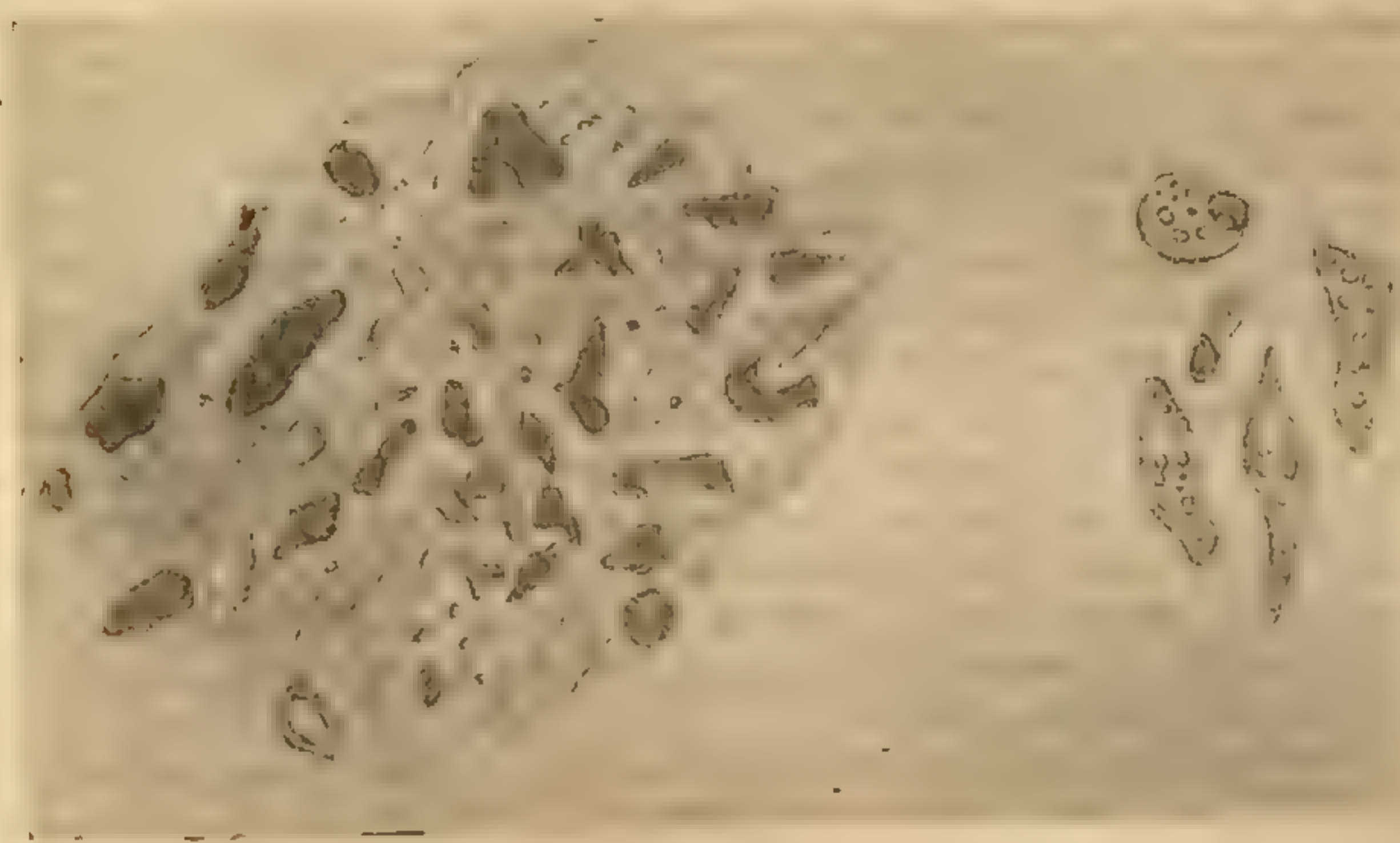


Рис. 233. Клетки кишечного эпителия (омылотворенные) в слизи и изолированные.

в) Лейкоциты нейтрофильные. Иногда они бывают хорошо сохранены, чаще, однако, резко перерождены, раздуты, с вакуолизированной протоплазмой. Морфология лейкоцитов может быть настолько изменена, что они становятся неузнаваемыми. Лейкоциты встречаются только в патологических случаях. Количество их при катарральных состояниях в нижнем отрезке кишок (дизентерия, полипы, рак прямой кишки, туберкулез) оно очень велико, и скопления лейкоцитов могут приобретать характер гноя. Выделение гноя может также наблюдаться при вскрытии параинтестинального абсцесса в кишку.

При язвах, локализованных в тонких кишках или в верхнем отрезке толстых (туберкулез, брюшной тиф), гнойные клетки часто бывают разрушены и ускользают от наблюдения; однако если при подозрении на кишечные язвы в испражнениях находят островки гноя, то это имеет решающее значение. Гнойно-гнилостный кал наблюдается при дизентерии (гангренозный процесс слизистой оболочки толстых кишок).

Эозинофилы в каловых массах, как и в мокроте, в нативном мазке распознаются по их более темному виду и крупной зернистости, сплошь заполняющей клетку. В препарате, окрашенном эозин-метиленовой синькой, азур-эозином по Романовскому, зернистость яркая, светящаяся.



Распознавание их в нативном препарате при некотором навыке не представляет трудности: в окрашенных мазках эти клетки при небольшом содержании могут ускользнуть от наблюдения.

Эозинофилы обычно заложены в слизи; нередко, наряду с ними, встречаются кристаллы Шарко-Лейдена; они наблюдаются при перепончатом колите и некоторых других формах колита, при спастических состояниях кишечника и амебной дизентерии.

г) Эритроциты могут быть свежие, неизмененные или выщелоченные в виде теней; однако последние в кале распознать очень трудно. Кровь может выделяться с калом и в виде аморфного распада, окрашенного в буроватый цвет (рис. 234).

Присутствие эритроцитов в общем служит указанием на язвенные процессы, хотя может встречаться и в отсутствие последних (венозные застой, катарральные состояния).

Неизменившиеся эритроциты встречаются в каловых массах обыкновенно при кровотечениях из нижнего отдела кишок (геморрой, рак прямой кишки и т. п.). Кровь из верхних отделов пищеварительного тракта под влиянием пищеварительных процессов большей частью настолько изменяется, что эритроциты в кале обнаружить не удастся. Исключение составляют случаи обильных кровотечений из верхних отделов, сопровождающиеся частыми дефекациями; в таких случаях кал также содержит неизменившуюся кровь.

д) Макрофаги — клетки различной величины, чаще крупные с одним круглым или овальным ядром. Протоплазма их содержит разнообразные включения — эритроциты, нейтрофилы цельные или их обломки. Благодаря указанным включениям, они могут быть ошибочно приняты за дизентерийную амёбу; встречаются при бациллярной дизентерии в количестве около 2%, а по А. Г. Алексееву и при амёбной дизентерии — в виде единичных экземпляров.

е) Слизь, как видимая простым глазом, так и обнаруживаемая при микроскопическом исследовании, состоит из бесструктурного более или менее прозрачного основного вещества, в котором могут быть заложены самые различные образования — эпителиальные клетки, лейкоциты, эритроциты, бактерии, пищевые остатки, детрит, кристаллы. При тщательном размешивании слизистого комочка в капле уксусной кислоты в нем появляется исчерченность (вследствие осаждения муцина кислотой). Одновременно отчетливее выявляется морфология заложенных в ней клеток. Слизь из верхних отделов кишечника тесно смешана с калом, содержит больше пищевых остатков; слизь из нижних отделов богаче клеточными элементами. Содержание бактерий в слизистых комочках очень различно. Слизь из прямой кишки нередко не смешана с калом и лишь пристаёт к его поверхности.

Присутствие слизи в кале у взрослого служит указанием на различного рода воспалительные состояния слизистой кишечника. У новорожденных мелкие хлопья слизи встречаются в физиологических условиях.

3) **Кристаллические образования.** Диагностическое значение кристаллических образований вообще невелико, но знание их необходимо, чтобы не смешать их с другими сходными образованиями. Чаще всего в каловых массах приходится наблюдать следующие формы кристаллов.

а) Фосфорнокислая аммиак-магнезия — трипельфосфат (см. «Осадки мочи») — частью напоминает по форме типичные гребовые крышки, частью встречается в виде кристаллических обломков, которые можно смешать с другими кристаллами; но легкая растворимость их в уксусной кислоте предохраняет от ошибок. Кристаллы трипельфосфата



не имеют определенного диагностического значения, увеличенное количество их может служить некоторым указанием на процессы гниения, но лишь в том случае, если кал не содержит примеси мочи. Чаще всего их находят в жидких испражнениях и в слизи, прилипшей к густым каловым массам, и почти постоянно там, где к калу примешана моча; последнее, очевидно, зависит от того, что они выпадают из мочи при брожении, развивающемся в ней под влиянием микроорганизмов, содержащихся в кале.

б) Нейтральный фосфорнокислый кальций встречается гораздо реже трипельфосфата, большей частью в виде бесцветных заостренных призм, прилегающих одна к другой верхушками. Диагностического значения не имеет.

в) Щавелевокислый кальций (см. «Осадки мочи») напоминает по форме обыкновенные конверты, в уксусной кислоте они не растворяются, а в серной растворяются, образуя кристаллы гипса. Чтобы проверить растворимость кристаллов, с препарата на предметном стекле снимают покровное, осторожно прибавляют каплю уксусной кислоты и, покрыв покровным стеклом, наблюдают под микроскопом за изменением кристаллов. Если они не меняют своих контуров и не исчезают, то таким же способом прибавляют каплю разведенной серной кислоты. Результат реакции обнаруживается не тотчас, а через 15—30 минут. Щавелевокислая известь встречается в нормальных и патологических испражнениях, главным образом после принятия пищи, богатой овощами.

г) Билирубин встречается в виде ромбических кристаллов, игл и зерен, окрашенных в золотистожелтый цвет. Он содержится в норме в меконии и испражнениях грудных детей, а у взрослых лишь при тяжелых поносах. Обычно он заложен в хлопьях слизи.

Кристаллы билирубина встречаются очень редко. Значительно чаще мы находим клетки, окрашенные билирубином в золотистожелтый цвет. Чтобы убедиться, что окраска вызвана билирубином, проделывают микрохимическую реакцию: у края покровного стекла, покрывающего препарат, кладут каплю реактива Гмелина или Фуше (см. «Моча», «Желчные пигменты»). В присутствии билирубина на месте соприкосновения реактива с калом образуется зеленая полоска.

Описанная окраска клеток может служить указанием на ускоренную эвакуацию кишечного содержимого.

д) Гематойдин, как и билирубин, встречается в виде ромбических кристаллов, игл и т. д., окрашенных не в золотистожелтый, а в красноватый цвет (см. также «Мокрота», «Кристаллические образования»).

Иногда гематойдин встречается в испражнениях при продолжительных застойных катаррах кишок, а также в случаях, где за несколько дней до исследования было кишечное кровотечение. Его находили также в меконии и кале детей грудного возраста.

е) Кристаллы Шарко-Лейдена ничем не отличаются от тех вытянутых октаэдров, которые бывают в мокроте при бронхиальной астме. Они встречаются во всех случаях, где имеется местная эозинофилия (стр. 541). При амебной дизентерии они наблюдаются преимущественно в хронических случаях и показывают громадные колебания в размерах (Эпштейн).

ж) Холестерин — нормальная составная часть желчи. Удерживается в растворе желчнокислыми щелочами, при расщеплении которых выпадает и кристаллизуется в виде ромбических таблиц, отличающихся сильной светопреломляемостью и неправильными изломами на краях (см. «Осадки мочи», «Мокрота»). В кале они нередко не имеют правильной формы и распознать их довольно трудно. Кристаллы холестер-



Копрологический синдром	Вода	Стерко- билин	Билирубин	Запах	Цвет
Нормальные испражнения	±	+	0	Нормальный	Коричневый
Двигательные нару- шения					
Испражнения при запоре . . .	—	+	0	Слабый	»
Испражнения при преждевре- менной эвакуации нормаль- ного содержимого . . . . .	++	+	0	Масляной кислоты	Желтый
Испражнения при преждевре- менной эвакуации нормаль- ного содержимого тонкой кишки . . . . .	+++	—	++	Индиферент- ный	Желтый, рыжий
Пищеварительная недостаточность					
Недостаточность поджелудоч- ной железы . . . . .	±	+	±	Масляной кислоты	Светложелтый
Недостаточность поступления желчи . . . . .	±	0	0	Жирный	Белый
Желудочная недостаточность	±	+	0	Гнилостный	Темнокорич- невый
Реакции слизистой (эн- териты, колиты)					
Испражнения при колите с поносами . . . . .	++	+	0	Жирный едкий	Коричневый
Испражнения при колите с за- порами . . . . .	—	+	0	Гнилостный	Темнокорич- невый
Испражнения при ложном по- носе . . . . .	++	+	0	Зловонный	»
Испражнения при брожении	++	+	0	Кислый	Желтый

Испражнения при изъязвлениях кишечника иногда оформленные, а чаще жидкие, с лейкоцитами

изредка встречаются как при физиологических, так и при патологических условиях. Диагностического значения не имеют.

з) Кристаллы жирных кислот и мыла описаны выше (стр. 537).

4) **Лекарственные вещества.** Из лекарственных веществ чаще всего встречаются кристаллы соединений висмута, частицы угля, соли бария (после рентгеноскопии желудочно-кишечного тракта) и кристаллы сульфонамидных соединений. Некоторые из этих веществ могут выделяться довольно долгое время после их употребления.

а) Кристаллы соединений висмута (рис. 235) — темнубурые, неправильно ромбические кристаллы, похожие на кристаллы гемина. По одним авторам, они представляют сернистый висмут, по другим — закись висмута.

б) Частицы угля (рис. 236) несколько напоминают кристаллы висмута, но отличаются от них тем, что они аморфны и окрашены не в бурый цвет, а в черный; нередко частицы угля имеют заостренные края.

Реакция	Мышечные волокна	Перевари- мая клет- чатка	Крахмал	Иодофиль- ная флора	Жирные кислоты	Нейтраль- ные жиры	Соединя- тельная ткань	Слизь
Щелочная	±	0	0	0	0	0	0	0
»	±	0	0	0	0	0	0	0
Слабокислая или нейтральная	±	++	++	++	±	0	0	0
Нейтральная или щелочная	+	+++	+++	+	++	++	0	0
Щелочная	+++	+++	+++	0	±	+++	0	0
Кислая	±	0	0	0	+++	±	0	0
Щелочная	+	0	0	0	0	0	++	0
»	±	++	+	+	0	0	0	±
»	±	0	0	0	0	0	0	+ или пе- репонки
»	±	0	0	0	0	0	0	±
Резко кислая	±	+++	+++	+++	0	0	0	0

или без них, с характерной реакцией на белок.

в) Соли бария содержатся в кале в течение нескольких дней после рентгеновского исследования. Они имеют вид однородных мелких бесцветных зернышек, заполняющих иногда все поле зрения. Кал, содержащий большое количество этих солей, непригоден для исследования; об изменении цвета такого кала см. стр. 531.

г) Кристаллы сульфонамидных соединений встречаются редко, так как большинство сульфонамидных препаратов растворимо в щелочной среде и поэтому в кале не обнаруживаются даже в концентрированном сульгин, кристаллы которого не растворяются в крепкой соляной кислоте, растворе едкой щелочи, но растворяются в крепкой соляной кислоте. Кристаллы находят при лечении сульгином рет ос. Они обычно бесцветные, очень крупные, с зубчатыми краями, крайне своеобразной формы, благодаря которой их легко распознать.

5) **Детрит (зернистый распад).** Под детритом подразумевают мельчайшие морфологические частицы, составляющие основную массу кала,



Исследование испражнений при различ.

Копрологический синдром	Вода	Стерко- билин	Билирубин	Запах	Цвет
Нормальные испражнения	±	+	0	Нормальный	Коричневый
Двигательные нару- шения					
Испражнения при запоре . .	—	+	0	Слабый	»
Испражнения при преждевре- менной эвакуации нормаль- ного содержимого . . . . .	++	+	0	Масляной кислоты	Желтый
Испражнения при преждевре- менной эвакуации нормаль- ного содержимого тонкой кишки . . . . .	+++	—	++	Индиферент- ный	Желтый, рыжий
Пищеварительная недостаточность					
Недостаточность поджелудоч- ной железы . . . . .	±	+	±	Масляной кислоты	Светложелтый
Недостаточность поступления желчи . . . . .	±	0	0	Жирный	Белый
Желудочная недостаточность	±	+	0	Гнилостный	Темнокорич- невый
Реакции слизистой (эн- териты, колиты)					
Испражнения при колите с поносами . . . . .	++	+	0	Жирный едкий	Коричневый
Испражнения при колите с за- порами . . . . .	—	+	0	Гнилостный	Темнокорич- невый
Испражнения при ложном по- носе . . . . .	++	+	0	Зловонный	»
Испражнения при брожении	++	+	0	Кислый	Желтый

Испражнения при изъязвлениях кишечника иногда оформленные, а чаще жидкие, с лейкоцитами

изредка встречаются как при физиологических, так и при патологических условиях. Диагностического значения не имеют.

3) Кристаллы жирных кислот и мыл описаны выше (стр. 537).

4) **Лекарственные вещества.** Из лекарственных веществ чаще всего встречаются кристаллы соединений висмута, частицы угля, соли бария (после рентгеноскопии желудочно-кишечного тракта) и кристаллы сульфонамидных соединений. Некоторые из этих веществ могут выделяться довольно долгое время после их употребления.

а) Кристаллы соединений висмута (рис. 235) — темнубурые, неправильно ромбические кристаллы, похожие на кристаллы гемина. По одним авторам, они представляют сернистый висмут, по другим — закись висмута.

б) Частицы угля (рис. 236) несколько напоминают кристаллы висмута, но отличаются от них тем, что они аморфны и окрашены не в бурый цвет, а в черный; нередко частицы угля имеют заостренные края.

в) Соли бария  
после рентгеновского  
бесцветных зернышек,  
жидкий большой коли-  
ко изменений цвета  
редко, так как больш-  
лочий среде и поз-  
сульгин, кристалл  
растворе едкой  
Кристаллы наход-  
ные, очень круп-  
благодаря котор-  
5) Детрит  
чайшие морфоло-  
30 Руководство



реакция	Мышечные волокна	Перевари- мая клет- чатка	Крахмал	Иодофиль- ная флора	Жирные кислоты	Нейтраль- ные жиры	Соедини- тельная ткань	Слизь
Щелочная	±	0	0	0	0	0	0	0
»	±	0	0	0	0	0	0	0
Слабокислая или нейтральная	±	++	++	++	±	0	0	0
Нейтральная или щелочная	+	+++	+++	+	++	++	0	0
Щелочная	+++	+++	+++	0	±	+++	0	0
Кислая	±	0	0	0	+++	±	0	0
Щелочная	+	0	0	0	0	0	++	0
»	±	++	+	+	0	0	0	±
»	±	0	0	0	0	0	0	+ или не- репонки
»	±	0	0	0	0	0	0	±
Резко кислая	±	+++	+++	+++	0	0	0	0

или без них, с характерной реакцией на белок.

в) Соли бария содержатся в кале в течение нескольких дней после рентгеновского исследования. Они имеют вид однородных мелких бесцветных зернышек, заполняющих иногда все поле зрения. Кал, содержащий большое количество этих солей, непригоден для исследования; об изменении цвета такого кала см. стр. 531.

г) Кристаллы сульфонамидных соединений встречаются редко, так как большинство сульфонамидных препаратов растворимо в щелочной среде и поэтому в кале не обнаруживается. Исключение составляет сульгин, кристаллы которого не растворяются даже в концентрированном растворе едкой щелочи, но растворяются в крепкой соляной кислоте. Кристаллы находят при лечении сульгином per os. Они обычно бесцветные, очень крупные, с зубчатыми краями, крайне своеобразной формы, благодаря которой их легко распознать.

5) Детрит (зернистый распад). Под детритом подразумевают мельчайшие морфологические частицы, составляющие основную массу кала,



природу которых под микроскопом большей частью установить уже не удается. Детрит состоит из мельчайших остатков пищевых веществ, микроорганизмов, отторгнутого омертвело-го кишечного эпителия и других мельчайших частиц, утративших свою структуру.

## МАКРО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ (КОПРОЛОГИЧЕСКОЕ) ИССЛЕДОВАНИЕ ИСПРАЖНЕНИЙ ПРИ АМЕБНОЙ И БАЦИЛЛЯРНОЙ ДИЗЕНТЕРИИ

Испражнения при бациллярной и амебной дизентерии уже по внешнему виду представляют ряд отличительных признаков<sup>1</sup>.

При бациллярной дизентерии нередко встречаются чисто слизистые и слизисто-кровянистые выделения. В случаях, когда выделяются фекальные массы, они содержат многочисленные крупные непрозрачные комочки слизи сероватого цвета. Пржилки крови расположены изолированно, не смешиваясь с общей массой. Когда крови много, она также не смешивается с каловыми массами и сохраняет свойственный ей красный цвет. Вся масса при покачивании сосуда, в котором она содержится, скользит по дну и при наклонении его целиком сливается.

Характер испражнений при амебной дизентерии значительно более разнообразен, чем при бациллярной. Испражнения могут быть жидки, кашицеобразны, в хронических случаях оформлены, с маленькими слизисто-кровянистыми комочками на поверхности. Кровь при амебной дизентерии тесно смешана с остальной каловой массой, и последняя имеет вид типичного малинового желе. Иногда кровь имеет коричневатый оттенок. Сравнительно редкие комочки слизи совершенно прозрачны, как стекло. Вся масса очень вязка и при наклонении сосуда (удобнее всего рассматривать ее в чашке Петри) почти не движется, плотно приставая к дну и стенкам.

Микроскопическая картина. При бациллярной дизентерии слизь содержит очень большое количество разнообразных клеточных элементов, причем главную массу их (90—97%) составляют гнойные клетки — нейтрофилы. Могут встречаться и единичные эозинофилы. Как протоплазма клеток, так и ядро резко дегенерированы. Наряду с гнойными клетками, нередко видны макрофаги, иногда с фагоцитированными эритроцитами. Последние могут быть ошибочно приняты за дизентерийные амебы, однако отличаются от последних своей неподвижностью. Клетки могут быть настолько разрушены, что установить их происхождение невозможно. При амебной дизентерии комочки слизи содержат сравнительно немного клеточных элементов. Главную массу их составляют так называемые «микротикические тельца». Они состоят из пикнотического ядра с узким ободком протоплазмы. Природа этих образований не вполне ясна. По Алексееву, это малые лимфоциты; по другим авторам — лизированные лейкоциты. Могут, далее, встречаться эозинофилы (местная эозинофилия) и кристаллы Шарко-Лейдена. Последние наблюдаются чаще в хронических случаях и представляют очень большие колебания в размерах.

Так называемому копрологическому исследованию, в которое, кроме макро-микроскопического исследования, входит еще определение белковых тел (см. стр. 555), в настоящее время придается определенное значение при распознавании дизентерии. Окончательно диагноз все же подтверждается

<sup>1</sup> Алексеев А. Г., Клиническая медицина, № 6 и 7, 1926.



лишь положительным результатом бактериологического исследования или нахождением дизентерийной амебы.

Приводим сводные данные макро- и микроскопического исследования испражнений при различных патологических состояниях (табл. 49).

## ГЛАВА ШЕСТАЯ

# ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИСПРАЖНЕНИЙ

## КРОВЬ

Кровяной пигмент в испражнениях часто бывает настолько изменен и содержание его иногда настолько невелико, что присутствие его может быть обнаружено только с помощью химических реакций. При оценке результата этих реакций приходится, однако, учитывать, с одной стороны, то, что обычно принимаемая нами пища содержит кровь (мясные продукты), что кровь может проглатываться вместе со слюной, носоглоточной слизью и мокротой, а с другой — что испражнения не представляют однородную массу и часть, взятая для исследования, может случайно и не содержать кровяного пигмента. Для устранения первого момента желательно, чтобы больной в течение 3—5 дней до исследования не употреблял в пищу мяса, рыбы, печени и других мясных продуктов. Чтобы по возможности устранить второй момент, необходимо при исследовании соблюдать следующие правила: 1) тщательно перемешивать весь кал или материал брать из разных мест и в достаточном количестве; 2) в сомнительных случаях не ограничиваться однократным исследованием, а производить его повторно. При выборе материала в оформленном кале иногда необходимо исследовать отдельно кал, взятый с поверхности и из глубины комков, так как при трещинах заднего прохода, при геморрое и т. д. только поверхностный слой может содержать примесь крови.

Кровяной пигмент в фекалиях обычно содержится в виде гематина; иногда, наряду с ним, содержится и неизмененный гемоглобин. При описываемых ниже реакциях гематин и гемоглобин определяются совместно, так как употребляемые при этих реакциях реактивы переводят гемоглобин в гематин.

Все химические реакции для определения кровяного пигмента в фекалиях принадлежат к так называемым каталитическим реакциям. В этих реакциях участвуют: 1) вещество, легко отдающее кислород, 2) вещество, легко окисляющееся, 3) катализатор. Из веществ, легко отдающих кислород, употребляют озонированный скипидар, перекись водорода или перекись бария. Легко окисляющихся веществ предложено много: гваяко-вая смола, бензидин, фенолфталеин, пирамидон и т. д. Все эти вещества, окисляясь, дают характерное изменение цвета. Катализатором является железо гемоглобина, играя в этих реакциях роль переносчика кислорода.

Наиболее употребительны следующие реакции.

1) **Реакция Деен-Вебера** (видоизмененная). При ней окисляющимся веществом является гваяковая смола, окислителем — озонированный скипидар или перекись водорода. Реактивы: 1) ледяная (или 80%) уксусная кислота; 2) 95° винный спирт; 3) эфир; 4) свежеприготовленная гваяковая настойка; 5) озонированный скипидар или 3% перекись водорода, свежеприготовленная из пергидрола; 6) хлороформ.

Приготовление гваяковой настойки. Небольшое количество (на кончике ножа) гваяковой смолы всыпают в сухую пробирку,



обливают 2—6 см<sup>3</sup> спирта (2) и дают отстояться. Отстоявшаяся настойка должна иметь цвет португальского вина. При употреблении берут отстоявшуюся жидкость, не задевая осадка.

Приготовление озонированного скипидара. Продажный скипидар наливают в плоский сосуд (чашка Петри, тарелка) и оставляют стоять 48 часов на свету, после чего сливают в склянку темного стекла, которую держат незакупоренной.

Производство реакции. Из тщательно размешанных каловых масс берут деревянной лучинкой около чайной ложки, переносят в фарфоровую ступку, обливают ледяной (или 80%) уксусной кислотой в количестве, достаточном для получения полужидкой кашицы (если кал жидок, то кислоты берут около  $\frac{1}{3}$  объема кала), тщательно растирают пестиком и сливают в пробирку; приливают 2—4 см<sup>3</sup> эфира, плотно закрывают пробкой и извлекают, положив пробирку в горизонтальном положении и катая ее по столу. Дав полежать около получаса (или больше), переводят пробирку в вертикальное положение, сливают эфирный слой в чистую сухую пробирку, добавляют 15—20 капель гваяковой настойки и капель 30 озонированного скипидара или капель 15 перекиси водорода. В присутствии крови появляется синее или фиолетовое окрашивание различной интенсивности. Окраска ярнее, если после приливания гваяковой настойки и скипидара прилить около 1 см<sup>3</sup> воды и около 1 см<sup>3</sup> хлороформа. Хлороформ приливают по каплям до тех пор, пока эфирный слой, смешавшись с хлороформом, не осядет на дно. Окраска держится недолго.

Реакция в таком виде не особенно чувствительна, но для клинических целей ее показаний достаточно. Слабо положительный результат без предварительной диеты не доказателен, и в таких случаях исследование необходимо повторить после тщательного соблюдения диеты.

2) Реакция с бензидином. Чаще всего применяется модификация Грегерсена. Окислителем служит перекись бария или перекись водорода, окисляющим веществом — бензидин.

Реактивы: 1) 0,025 бензидина и 2) 0,1 перекиси бария (отвешивание такого маленького количества, как 0,025, затруднительно, поэтому отвешивают 0,1 и делят это количество на 4 равные части, после чего каждую смешивают с 0,1 перекиси бария). Развешенные порошки удобно держать в запасе в пробирках. Непосредственно перед производством реакции к смеси бензидина и перекиси бария приливают 5 см<sup>3</sup> 50% уксусной кислоты и взбалтывают содержимое пробирки. Смесь при стоянии довольно быстро темнеет, но пригодна к употреблению в течение нескольких часов.

Производство реакции. Кал намазывают лучинкой не очень толстым слоем на чистое предметное стекло, кладут его на белый фон и обливают 2—4 каплями бензидинового раствора. В присутствии крови появляется тотчас или немного спустя синее или зеленое окрашивание.

Перекись бария можно заменить перекисью водорода: готовят насыщенный раствор бензидина в ледяной уксусной кислоте и сохраняют в склянке коричневого стекла в темном месте. Непосредственно перед производством реакции к 2 см<sup>3</sup> этого раствора приливают 1—1,5 см<sup>3</sup> 3% перекиси водорода и обливают препарат этой смесью.

Реакция с бензидином по Грегерсену очень чувствительна, но положительный результат может наблюдаться в отсутствии крови при наличии лейкоцитов и других клеток; поэтому доказательным считается только отрицательный результат, положительный же желательно проверить реакцией Вебера.



Бензидиновая проба с эфирной вытяжкой применяется реже. Готовят концентрированный раствор бензидина в ледяной уксусной кислоте. К уксусно-эфирному экстракту кала (приготовленному, как для реакции Вебера), приливают несколько капель бензидинового раствора и приблизительно столько же 3% перекиси водорода. В присутствии значительного количества крови быстро появляется синее, а при малых количествах — медленное синее или зеленоватое окрашивание.

**3) Реакция с пирамидоном.** Реактивы: 1) 5% раствор пирамидона в 90° спирте; 2) 30% уксусная кислота; 3) перекись водорода 3%.

**Производство реакции.** Кал разводят водой приблизительно в 10 раз; затем в пробирку наливают равные количества разведенного кала и раствора пирамидона и приливают 10—12 капель 30% уксусной кислоты и несколько капель перекиси водорода. При значительном содержании крови тотчас же появляется фиолетовое окрашивание; при малом содержании крови окраска появляется спустя некоторое время, и она менее интенсивна.

### БИЛИРУБИН

**Производство реакции.** Кал растирают с водопроводной водой до полужидкой консистенции и центрифугируют. Слив после центрифугирования жидкость, наливают на осадок немного водопроводной воды, размешивают в ней осадок и центрифугируют вторично. На отмытый осадок наливают 1—2 см<sup>3</sup> реактива Фуше (см. «Моча», «Желчные пигменты»); в присутствии билирубина появляется зеленое окрашивание.

Билирубин можно определять и реакцией с сулемой (см. ниже).

### ЖЕЛЧНЫЕ КИСЛОТЫ

При нормальных условиях желчные кислоты всасываются в верхних отделах кишечника. Следовательно, их выделение с каловыми массами представляет патологическое явление. Чтобы их обнаружить, небольшое количество кала извлекают спиртом и фильтруют в фарфоровую чашку. Фильтрат выпаривают досуха на водяной бане.

Остаток растворяют в небольшом количестве воды и слегка подщелачивают раствором едкого кали или углекислой соды. К водному раствору приливают несколько капель 5% раствора сахарозы. Смесь переливают в пробирку и осторожно по стенке спускают 2—3 см<sup>3</sup> крепкой серной кислоты. Пробирка сильно разогревается, ее охлаждают примерно до 70°. При положительной реакции на границе слоев образуется красное кольцо. При легком взбалтывании вся жидкость окрашивается в красный цвет.

### УРОБИЛИН (СТЕРКОБИЛИН)

Билирубин, поступающий в кишечник с желчью, под влиянием кишечной флоры восстанавливается, в результате чего образуется уробилин (стеркобилин) — нормальный пигмент кала — и уробилиноген — продукт более полного восстановления; последний на воздухе вновь быстро окисляется в уробилин.

При описываемых ниже реакциях уробилин и уробилиноген определяются совместно.

**1) Качественные реакции** производят в случаях, когда кал не имеет свойственной ему коричневой окраски. Они имеют целью установить, поступает ли желчь в кишечник. Заслуживают внимания следующие реакции.



а) Реакция с сулемой. Эта реакция представляет одновременное определение уробилина и билирубина. Реактив — насыщенный водный раствор сулемы — готовят, растворяя 7 г сулемы в 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды при нагревании; реактив после охлаждения фильтруют (лучше на следующий день).

Производство реакции. Небольшое количество кала растирают в фарфоровой ступке с реактивом до консистенции жидкой кашицы; переливают в белую фарфоровую чашку или в довольно широкую пробирку (что практически удобнее) и оставляют до следующего дня на свету. Кал, осевший на дно сосуда, в присутствии уробилина и уробилиногена окрашивается в розовый цвет; если кал содержит неизмененный желчный пигмент — билирубин, то в местах его присутствия получается зеленая окраска.

б) Реакция с уксуснокислым цинком основана на способности цинковой соли уробилина давать флюоресценцию. Реактив — 10% спиртовой раствор уксуснокислого цинка; перед употреблением его нужно взбалтывать. Небольшое количество кала растирают сначала с приблизительно десятикратным объемом воды, потом с равным объемом реактива, приливают несколько капель иодной настойки и фильтруют через бумажный фильтр; фильтрат показывает красивую зеленую флюоресценцию, т. е. в проходящем свете имеет розовый цвет, в отраженном — травянисто-зеленый.

в) Спектроскопический способ. Присутствие уробилина можно обнаружить спектроскопически, исследуя при помощи ручного спектроскопа эфирную вытяжку, получаемую при производстве реакции Деен-Вебера на кровь. Уробилин дает характерный спектр поглощения (см. «Моча», стр. 333).

2) Количественное определение. Содержание уробилина повышается при усиленном поступлении желчи в кишечник, при заболеваниях, сопровождающихся повышенным гемолизом (пернициозная анемия, отравления гемолитическими ядами, внутренние кровоизлияния). Оно понижено в случаях частичной задержки желчи. Одновременно с повышенным содержанием уробилина в кале обычно наблюдается повышенное содержание уробилина в моче и билирубина в крови. Поэтому, как правило, определение уробилина (стеркобилина) в кале и моче производится параллельно.

а) Приблизительная количественная оценка. Приблизительное определение может дать для клиники ценные указания, ввиду чего нижеописываемый способ, благодаря своей простоте, заслуживает внимания. Он основан на свойстве уробилиногена давать с пара-диметиламидобензальдегидом розовое окрашивание.

Реактивы: 1) крепкая уксусная кислота; 2) 95° винный спирт; 3) эфир; 4) реактив Эрлиха: 2 г диметиламидобензальдегида растирают в ступке с 10 см<sup>3</sup> крепкой соляной кислоты, доливают соляной кислотой до 50 см<sup>3</sup> и дистиллированной водой до 100 см<sup>3</sup>.

Ход определения. Из тщательно размешанного кала отвешивают в ступке точно 5 г, приливают 1 см<sup>3</sup> крепкой уксусной кислоты, растирают в ней кал, приливают 10 см<sup>3</sup> винного спирта и столько же эфира. Все вместе энергично размешивают и фильтруют через бумажный фильтр. Затем берут 10 пробирок, наливают в каждую по 2 см<sup>3</sup> дистиллированной воды; в первую пробирку приливают 2 см<sup>3</sup> полученного фильтрата; смешивают содержимое пробирки и переносят из нее 2 см<sup>3</sup> во вторую пробирку; из второй, смешав точно так же, переносят в третью пробирку и так далее до десятой пробирки. В пробирках получаются



разведения фильтрата 1:2, 1:4, 1:8 и т. д. — до 1:1024. В каждой пробирке — 2 см<sup>3</sup> жидкости.

Во все пробирки приливают по 1 см<sup>3</sup> реактива Эрлиха. В присутствии уробилиногена получается розовая окраска, которая появляется тотчас же и держится несколько часов. Отмечают наибольшее разведение, которое дало еще розовую окраску. Пробирки лучше рассматривать на белом фоне.

Когда предполагается большое содержание уробилина, рекомендуется с самого начала приготовить разведение 1:64 (1 см<sup>3</sup> фильтрата и 63 см<sup>3</sup> воды) и в дальнейшем исходить из него; когда уробилина мало, можно ограничиться разведением в 8, 16 раз.

В норме положительная реакция наблюдается в разведении 1:64, 1:128 и в редких случаях 1:256; в патологических случаях (при пернициозной анемии и других заболеваниях) получается положительный результат в разведениях 1:512, 1:1024 и 1:2048.

Уменьшение содержания уробилиногена наблюдается при недостаточном поступлении желчи в кишечник.

При оценке результата учитывается суточное количество кала.

б) Количественное определение методом флюоресценции. Принцип реакции. К материалу, содержащему уробилин, приливают алкогольный раствор уксуснокислого цинка, затем смесь разводят соответствующей жидкостью до исчезновения флюоресценции. Уробилиноген предварительно переводится в уробилин прибавлением иодной настойки. При указанных ниже условиях опыта содержание 0,085 мг% уробилина дает едва заметную флюоресценцию.

Реактивы: 1) уксуснокислый цинк в порошке; 2) абсолютный или 95° алкоголь; 3) 3% спиртовая иодная настойка; 4) разводящая жидкость: в мерной колбочке на 200 см<sup>3</sup> растворяют на холоду 20 г уксуснокислого цинка в 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и доливают абсолютного алкоголя до метки. Определение флюоресценции производят в плоской удлиненной коробке, внутри оклеенной черной бумагой. В верхней стенке коробки имеется ряд мелких круглых отверстий, в которые вставляются маленькие пробирки с исследуемой жидкостью. В коробке имеется еще только вырез в передней стенке, дающий возможность смотреть вглубь ее. Жидкость в пробирках освещается только сверху.

Ход определения. 10 г свежего хорошо промешанного кала растирают с 20 см<sup>3</sup> петролейного эфира в течение 2—3 минут. Эфир сливают, экстрагирование повторяют до исчезновения в экстракте реакции флюоресценции с уксуснокислым цинком (удаление индола и скатола). Остаток растирают с 10 см<sup>3</sup> алкоголя (2), 1 г уксуснокислого цинка и 3 каплями иодной настойки (3), после чего фильтруют. Фильтрат должен быть прозрачен. Предварительно определяют ориентировочно, какое разведение дает исчезновение флюоресценции. Затем пипеткой на 2 см<sup>3</sup> с делениями на  $\frac{1}{100}$  отмеривают убывающие количества фильтрата в узенькие пробирочки и доливают содержимое каждой пробирки разводящей жидкостью до 2 см<sup>3</sup>. После этого отмечают, какое из разведений еще дает флюоресценцию.

Отсчет производят по табл. 50, учитывая степень разведения и то, что граница видимой флюоресценции соответствует содержанию 0,085 мг уробилина в 100 см<sup>3</sup>. Имеются указания, что определение можно производить и без предварительного экстрагирования петролейным эфиром.

Определение количества уробилина в моче производят без предварительного экстрагирования петролейным эфиром. Берут 10 см<sup>3</sup> мочи кислой реакции или подкисленной уксусной



Таблица 50

Фильтрат в см <sup>3</sup>	Разводящая жидкость в см <sup>3</sup>	Уробилин в мг%	Фильтрат, разведение 1:10 в см <sup>3</sup>	Разводящая жидкость в см <sup>3</sup>	Уробилин в мг%
2,0	—	0,17	0,8	1,2	4,25
1,5	0,5	0,21	0,66	1,34	5,10
1,0	1,0	0,34	0,57	1,43	5,95
0,8	1,2	0,43	0,5	1,5	6,80
0,5	1,5	0,68	0,4	1,6	8,50
0,4	1,6	0,85	0,3	1,7	11,00
0,3	1,7	1,10	0,26	1,74	12,75
0,26	1,74	1,28	0,2	1,81	17,05
0,2	1,8	1,70	0,16	1,84	21,25
0,16	1,84	2,13	0,13	1,87	25,50
0,13	1,87	2,55	0,1	1,9	34,00
0,1	1,9	3,40	Фильтрат, разведение 1:100		
			0,80	1,2	42,5
			0,66	1,34	51,0
			0,57	1,43	59,50
			0,50	1,5	68,0
			0,4	1,6	85,0
			0,3	1,7	110,0

кислотой, прибавляют 10 см<sup>3</sup> алкоголя, 1 г уксуснокислого цинка и 3 капли иодной настойки и фильтруют. Из фильтрата готовят разведения, как описано выше.

Содержание уробилина в суточном количестве мочи в норме 20—25 мг; при заболеваниях печени и инфекционных болезнях оно может повышаться до 600 мг — 1 г за сутки.

в) Количественное определение по Тервену. Способ Тервена значительно точнее предыдущего, но требует довольно большой затраты времени.

Принцип способа: уробилин переводится в уробилиноген и определяется совместно с ним. Уробилиноген дает с пара-диметиламидобензальдегидом красное окрашивание, которое поддается сравнению с окраской щелочного раствора фенолфталеина.

Реактивы: 1) соль Мора (железоаммиачные квасцы, соль закиси) — 16% раствор; готовят за 2—3 часа до употребления; 2) едкий натр — 12% раствор; 3) очищенный эфир; эфир промывают, взбалтывая в делительной воронке сначала с 3—4 см<sup>3</sup> 30% NaOH, потом раза три с дистиллированной водой — до исчезновения щелочной реакции; часто возобновлять; 4) виннокаменная кислота 20% или ледяная уксусная кислота; 5) пара-диметиламидобензальдегид в порошке или раствор его в эфире, насыщенный на холоду; 6) соляная кислота, удельный вес 1,19; 7) уксуснокислый натрий — раствор, насыщенный на холоду; 8) фенолфталеин — 0,05% спиртовой раствор, точно приготовленный; раствор стойкий; 9) сода — насыщенный водный раствор на холоду (19% раствор безводной Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>); 10) салициловая кислота — насыщенный спиртовой раствор.

Приготовление стандартного раствора: смешивают 5 см<sup>3</sup> раствора соды (9), 94 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и 1 см<sup>3</sup> (отмеривать всегда одной и той же точно проверенной пипеткой) 0,05% фенолфталеина (8). Окраска раствора соответствует содержанию 0,4 мг% уробилина. Стандартный раствор необходимо готовить каждый раз



Определение в кале. Методика исследования складывается из нескольких моментов.

Подготовка материала и восстановление уробилина в уробилиноген. Кал собирают за 3—4 суток, сохраняют в темном месте, взвешивают. Перед реакцией кал тщательно промешивают до получения гомогенной массы. Отвешивают из нее 5 г и растирают в ступке с 50 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, приливая воду небольшими порциями. Затем, продолжая размешивать, приливают 50 см<sup>3</sup> раствора соли Мора (1) и 50 см<sup>3</sup> едкого натра (2). Едкий натр приливают медленной струей из пипетки, все время размешивая массу. Смесь тотчас сливают в цилиндр на 150 см<sup>3</sup> или на 100 см<sup>3</sup> с притертой пробкой, наполняя его до краев, и плотно закрывают пробкой. Под пробкой не должно быть пузыря воздуха. Еще удобнее пользоваться цилиндром с притертой стеклянной пластинкой. Цилиндр ставят в темное место до следующего дня.

Ход определения. На следующий день проверяют при помощи спектроскопа, восстановился ли уробилин полностью (отсутствие уробилинового спектра поглощения), и фильтруют через плотный бумажный фильтр в склянку коричневого стекла. 2 см<sup>3</sup> фильтрата (точно отмеренного) вливают в сухую делительную (или капельную) воронку, приливают 1 см<sup>3</sup> 20% виннокаменной кислоты или 2 см<sup>3</sup> ледяной уксусной (так как хромоген извлекается при кислой реакции) и 20 см<sup>3</sup> эфира (3) и энергично встряхивают воронку 60—100 раз. Эфиру дают отстояться; 10 см<sup>3</sup> эфирного экстракта переносят в другую чистую делительную или капельную воронку; всыпают пара-диметиламидобензальдегида на кончике ножа и приливают 10 капель крепкой соляной кислоты (удельный вес 1,19). Встряхивают тотчас 1½ минуты. При этом происходит конденсация уробилиногена с пара-диметиламидобензальдегидом; продукт соединения — красящее вещество — переходит в соляную кислоту. Приливают тотчас немного (2—3 см<sup>3</sup>) дистиллированной воды и 3 см<sup>3</sup> раствора уксуснокислого натрия (7). Последний держат наготове отмеренным. Прибавление уксуснокислого натрия удаляет избыток соляной кислоты и уничтожает окраску от индола и скатола. Снова встряхивают — окраска извлекается водным слоем. Дав жидкостям расслоиться, спускают нижний слой в маленький мерительный цилиндр.

Эфирный экстракт вторично извлекают: прибавляют 5 капель соляной кислоты, встряхивают 1½ минуты, приливают немного воды и 1,5 см<sup>3</sup> уксуснокислого натрия и вновь встряхивают. Вторую порцию окрашенной жидкости спускают в тот же цилиндр и обычно доливают до 25 см<sup>3</sup>. Если уробилина мало, то лучше долить до 10 см<sup>3</sup>; если его очень много — то до 50—100 см<sup>3</sup> и больше.

Колориметрирование производят в колориметре Дюбоска обычным способом или в колориметре Аутенрита, прокалибровывая клин.

Для калибрования клина желательно, по техническим соображениям, пользоваться не раствором уробилиногена и не раствором фенолфталеина, а какой-нибудь другой окрашенной жидкостью любого цвета, например, n/4 раствором двуххромовокислого калия. Наполняют этим раствором клин, затем готовят из него ряд растворов убывающей концентрации с интервалами в 10% и, наполняя ими поочередно кюветку, считывают показания колориметра. Полученные данные обычным способом заносят на миллиметровую бумагу: отсчитанные деления шкалы (0—100) — на ординате, соответствующие концентрации взятого раствора (100, 90, 80% и т. д.) — на абсциссе (см. «Колориметр Аутенрита»).

При производстве анализа поступают следующим образом. Наполнив клин стандартным раствором, а кюветку — исследуемой жидкостью, чи-



тают показания шкалы колориметра и находят по кривой соответствующую жидкости концентрацию. Если она равна 70, то, принимая концентрацию стандартной жидкости равной  $0,4 \text{ мг}\%$ , получают для концентрации исследуемой жидкости  $0,4 \times 0,70 = 0,28 \text{ мг}\%$ .

Нужно затем принять в расчет разведения, сделанные в ходе реакции. Последние составляют: 30 — разведение кала в фильтрате 5:150, 10 — разведение фильтрата при извлечении эфиром 2:20 и 2,5 — отношение объема эфирного экстракта к конечному объему — 10:25. Таким образом, при конечном объеме в  $25 \text{ см}^3$  разведение составляет  $30 \times 10 \times 2,5 = 750$  (при конечном объеме в  $10 \text{ см}^3$  разведение равно  $30 \times 10 \times 1 = 300$ , при конечном объеме в  $50 \text{ см}^3$  —  $30 \times 10 \times 5 = 1500$ ). Умножая полученную концентрацию (в приведенном примере  $0,28 \text{ мг}\%$ ) на 750, получают содержание уробилина в кале в миллиграмм-процентах, т. е. количество миллиграммов уробилина в 100 г кала.

Для вычисления суточного количества выделенного уробилина нужно принять в расчет вес суточного количества кала.

Определение в моче, как упомянуто выше, желательно производить параллельно с исследованием кала. Мочу собирают за сутки, сохраняя в темной посуде; для консервирования к ней прибавляют  $10 \text{ см}^3$  раствора салициловой кислоты (10). Перед реакцией все суточное количество соединяют в один сосуд и смешивают встряхиванием (осадок содержит уробилин). Затем  $80 \text{ см}^3$  мочи наливают в широкий бокал или большую фарфоровую чашку, приливают  $20 \text{ см}^3$  раствора соли Мора (1) и  $20 \text{ см}^3$  раствора едкого натра (2), как указано выше; мутную жидкость сливают в цилиндр, который закрывают без доступа воздуха, как было описано, и ставят в темное место до следующего дня. На следующий день, проверив спектроскопом на полноту редукции (в моче, богатой уробилином, для полной редукции иногда приходится приливать двойное количество соли Мора и едкого натра), фильтруют в темную склянку, отмеривают  $20 \text{ см}^3$  фильтрата в капельную воронку, подкисляют  $5 \text{ см}^3$  виннокаменной или  $10 \text{ см}^3$  ледяной уксусной кислоты и извлекают  $40 \text{ см}^3$  эфира (3).

После полного расслоения жидкостей нижний слой удаляют через нижний кран воронки. Эфирный экстракт в воронке взбалтывают 4 раза с дистиллированной водой (по  $3 \text{ см}^3$  воды каждый раз). Воду после каждого промывания выливают. Отмеривают  $30 \text{ см}^3$  промытого эфирного экстракта и переносят в чистую сухую капельную воронку. Подсыпают сухой пара-диметиламидобензальдегид на кончике ножа и в дальнейшем поступают, как было описано при исследовании кала.

Если исследуемая моча содержит мало уробилина, то желательно, чтобы конечный объем был невелик —  $5 \text{ см}^3$ . В таких случаях уже при первом извлечении добавляют только 5 капель соляной кислоты и  $1,5 \text{ см}^3$  уксуснокислого натрия. Если уробилина много, конечный объем доводят до  $25 \text{ см}^3$ . Колориметрируют так же, как кал.

Разведение мочи при конечном объеме в  $25 \text{ см}^3$  равно 1,5 (моча в фильтрате  $80:120$ )  $\times 2$  (фильтрат к эфиру  $20:40$ )  $\times \frac{25}{30}$  (объем эфирного экстракта к конечному объему  $30:25$ ). Таким образом, разведение при конечном объеме в  $25 \text{ см}^3$  равно:

$$1,5 \times 2 \times \frac{25}{30} = 2,5;$$

при конечном объеме в  $5 \text{ см}^3$ :

$$1,5 \times 2 \times \frac{5}{30} = 0,5.$$



Умножая полученную при колориметрировании концентрацию на разведение, получают уробилин в миллиграмм-процентах и затем, приняв в расчет суточное количество мочи, вычисляют количество уробилина, выделившееся за сутки.

Нормы количества уробилина, выделяемого за сутки калом и мочой, даваемые различными авторами, колеблются в широких пределах, в среднем от 30 до 100 мг для кала. Отношение между содержанием уробилина в кале и моче непостоянно.

### БЕЛКОВЫЕ ТЕЛА (РЕАКЦИЯ ТРИБУЛЕ)

В каловых массах могут содержаться в растворенном состоянии нуклеопротейды, сывороточный белок и муцин. При нормальной функции кишечника нуклеопротейды пищи с каловыми массами не выделяются вовсе или же выделяются в виде следов. Если исключена ускоренная эвакуация кишечного содержимого, то белковые тела, обнаруживаемые в каловых массах, представляют белки не пищевого, а тканевого происхождения. Они являются указанием на наличие язвенных процессов, связанных с разрушением клеточных элементов кишечной стенки и экссудацией тканевой жидкости. Их обнаружению придают определенное диагностическое значение при кишечных заболеваниях.

**Принцип метода.** При прибавлении к эмульсии кала реактивов, осаждающих белки и муцин, образующиеся хлопья адсорбируют микроорганизмы и детрит, взвешенные в каловой эмульсии; хлопья оседают на дно, и эмульсия просветляется.

**Реактивы:** 1) насыщенный водный раствор сулемы — реактив Трибуле (способ приготовления — см. стр. 550), или за неимением сулемы — 20% раствор трихлоруксусной кислоты, однако проба с сулемой дает больший процент положительных результатов; 2) уксусная кислота 20%.

**Ход определения.** Приготавливают 3% водную эмульсию кала, растирая в ступке 3 г кала со 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. В 3 широкие пробирки наливают по 15 см<sup>3</sup> каловой эмульсии. В первую пробирку приливают 2 см<sup>3</sup> раствора сулемы или 2 см<sup>3</sup> трихлоруксусной кислоты, во вторую — 2 см<sup>3</sup> уксусной кислоты и в третью (контрольную) — 2 см<sup>3</sup> дистиллированной воды.

Содержимое пробирок смешивают опрокидыванием и оставляют до следующего дня (12 — 18 часов) при комнатной температуре. На следующий день отмечают степень просветления жидкости по сравнению с контрольной. Интенсивность просветления обозначается крестами: +++ резко положительная реакция, ++ положительная реакция, + слабо положительная реакция и т. д. Просветление в первой пробирке указывает на наличие нуклеопротейдов и сывороточного белка, во второй — на наличие муцина; в контрольной пробирке жидкость остается мутной.

По Вишнякову, реакция имеет диагностическое значение при колитах различной этиологии, позволяя оценивать степень поражения кишечной стенки. Другие авторы указывают, что она может быть использована у туберкулезных больных для дифференцирования язвенных процессов в кишках от поносов токсического происхождения, часто наблюдаемых при тяжелых формах туберкулеза.

По Кончаловскому, проба на содержание белка мало доказательна, так как даже при поражении толстых кишок белковые жидкости могут подвергнуться бактериальному разложению.



## ОРГАНИЧЕСКИЕ КИСЛОТЫ

Определение органических кислот может служить мерилем интенсивности процессов брожения в кишечнике. Органические кислоты жирного ряда — уксусная, масляная, муравьиная, молочная и т. д. — являются по преимуществу продуктами брожения углеводов, и лишь незначительная часть их образуется при расщеплении жиров и белков.

Принцип реакции. К разведенному калу прибавляют раствор полутрахлористого железа и затем гидрат окиси кальция до ясно щелочной реакции на фенолфталеин. Образующийся при этом коллоидный гидрат окиси железа адсорбирует стеркобилин и мельчайшие взвешенные частицы (микроорганизмы, детрит), препятствуя их прохождению через фильтр. Одновременно органические кислоты гидратом окиси кальция переводятся в кальциевые соли. Кальциевые соли кислот брожения (в отличие от кальциевых солей щавелевой кислоты, фосфорной кислоты и др.) растворимы в воде и переходят в фильтрат. В дальнейшем к нейтрализованному фильтрату добавляют соляную кислоту, которая вытесняет органические кислоты из их солей. В тот момент, когда процесс вытеснения закончен, получается избыток свободной соляной кислоты, который резко меняет рН фильтрата. Момент этот определяется переменной цвета индикатора.

Реактивы: 1) 30% водный раствор полутрахлористого железа; 2) фенолфталеин — обычный 1% спиртовой раствор; 3) гидрат окиси кальция —  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (гашеная известь) в порошке; 4) п/10 соляная кислота; 5) п/10 едкий натр; 6) индикатор — 0,5% спиртовой раствор диметиламиноазобензола.

Ход реакции. Из хорошо размешанного кала отвешивают в фарфоровой ступке 10 г, отмеривают в цилиндре 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и, тщательно растирая кал, приливают к нему понемногу воду, всего около 80—90 см<sup>3</sup>; сюда же приливают 2 см<sup>3</sup> раствора полутрахлористого железа (1) и 20—30 капель фенолфталеина (2). В другую маленькую ступку всыпают около 2 г гидрата окиси кальция (3), растирают его в небольшом количестве воды, оставшейся в цилиндре, и сливают в ступку с разведенным калом. Все вместе тщательно размешивают. Если гидроокиси кальция взято достаточно, то смесь окрашивается в красный цвет; в противном случае прибавляют ее еще немного. Дав смеси постоять 10 минут, фильтруют ее через складчатый бумажный фильтр. Фильтрат должен быть прозрачным, красного цвета.

В широкую пробирку отмеривают 25 см<sup>3</sup> фильтрата и нейтрализуют п/10  $\text{HCl}$  (4) до слабозеленоватого цвета. Случайно прилитый избыток соляной кислоты можно устранить приливанием нескольких капель п/10  $\text{NaOH}$  (5). Количество кислоты, пошедшей на нейтрализацию (обычно несколько кубических сантиметров), не имеет значения для дальнейшего хода исследования. К нейтрализованному фильтрату прибавляют 12—15 капель индикатора (6) и титруют из бюретки п/10  $\text{HCl}$  до перемены цвета из желтого в оранжевый. Определение можно производить и в 10 см<sup>3</sup> фильтрата, приливая соответственно меньшее количество индикатора.

Расчет. Количество п/10 соляной кислоты, потраченной при титровании, соответствует содержанию органических кислот в 25 см<sup>3</sup> фильтрата: его умножают на 4, чтобы привести к 100 см<sup>3</sup> фильтрата, соответствующим 10 г кала (при работе с 10 см<sup>3</sup> фильтрата нужно умножать не на 4, а на 10). Эту цифру, выражающую содержание органических кислот в 10 г кала, и принято указывать в анализе. В норме она колеблется между 14 и 16 см<sup>3</sup>, а при усиленных процессах брожения быстро увеличивается до 20, 25, 30 и даже 40.



## АММИАК

Остатки белковой пищи, слизь и пищеварительные соки в нижнем отрезке кишечника разлагаются бактериями, в результате чего образуется аммиак. Содержание аммиака может до известной степени служить мерой процессов расщепления (гниения).

Для исследования желательно брать свежий кал. Очень важно, чтобы кал не содержал примеси мочи, так как в присутствии бактерий из мочевины мочи быстро образуется аммиак.

**Принцип реакции.** К фильтрату кала, полученному, как при определении органических кислот, прибавляют формалин; последний соединяется с аминогруппой аммонийных солей, образуя гексаметилен-тетрамин, причем кислотные ионы из аммонийных солей освобождаются. Количество их оттитровывается едким натром. При этом способе определяется суммарно свободный аммиак, связанный аммиак и аминокислоты.

**Реактивы.** Для определения аммиака, кроме реактивов, применяемых для определения органических кислот (пп. 1—5), нужен еще продажный формалин, который разводят пополам дистиллированной водой и нейтрализуют  $n/10$  едким натром в присутствии фенолфталеина непосредственно перед употреблением.

**Ход реакции.** Приготавливают фильтрат так же, как для определения органических кислот, и точно так же его нейтрализуют. К 25 см<sup>3</sup> фильтрата приливают 5 см<sup>3</sup> нейтрализованного формалина, затем еще несколько капель фенолфталеина и титруют из бюретки  $n/10$  NaOH до исчезающей розовой окраски. Количество затраченного при этом  $n/10$  NaOH умножают на 4 (см. выше), чтобы привести к 100 см<sup>3</sup> фильтрата, соответствующим 10 г кала.

Определение аммиака, подобно определению органических кислот, можно производить и в меньшем количестве фильтрата, уменьшив соответственно количество приливаемого формалина и изменив расчет.

В норме содержание аммиака соответствует приблизительно 4 см<sup>3</sup>  $n/10$  NaOH на 10 г кала. Цифры свыше 10 см<sup>3</sup> определенно указывают на усиление процессов гниения в кишечнике, низкие цифры (1 см<sup>3</sup> и даже меньше) — на обратное явление. Кал из тонких кишок и из слепой кишки в норме содержит лишь следы аммиака.

## ИССЛЕДОВАНИЕ КОНКРЕМЕНТОВ

В кале могут встречаться желчные камни, кишечные и каловые камни и камни поджелудочной железы. Желчные камни, кроме того, нередко доставляют в лабораторию после хирургического вмешательства на желчном пузыре.

**1) Желчные камни.** а) Общие свойства. Цвет желчных камней обыкновенно беловато-желтый, реже буро-красный. Камни из чистого холестерина почти бесцветны и обнаруживают явно кристаллический характер. Величина их подвержена весьма значительным колебаниям — от булавочной головки до размеров грецкого ореха. По консистенции они обнаруживают различные степени плотности, но в общем желчные камни значительно мягче и легче, чем типичные кишечные камни. На поперечном разрезе желчных камней нередко явственно видны ядро и хорошо выраженная слоистость.

б) Химическое исследование. Так как желчные камни и желчные конкременты состоят главным образом из холестерина и известковых соединений желчных пигментов, то в тех случаях, когда природа камня



неизвестна, его принадлежность к желчным камням доказывают путем химического определения этих составных частей.

Ход определения. Камень измельчают в порошок и кипятят с водой, причем удаляются имеющиеся иногда следы желчных кислот (если материала мало, то от кипячения с водой можно отказаться). Осадок извлекают теплой смесью спирта и эфира в равных количествах. В раствор переходит холестерин; осадок содержит связанные с кальцием желчные пигменты и нерастворимые в воде неорганические соли. Для определения холестерина алкоголь-эфирный раствор отделяют от осадка путем центрифугирования. Каплю раствора переносят на предметное стекло и быстро покрывают покровным. Холестерин выкристаллизовывается в виде больших, очень тонких, характерно расположенных бесцветных ромбических таблиц, появляющихся сначала по краям препарата.

Для распознавания холестерина можно также пользоваться двумя цветными реакциями.

1. Под покровное стекло впускают концентрированную серную кислоту. Кристаллы начинают с краев расплавляться и окрашиваются в карминово-красный цвет; при прибавлении люголевского реактива появляется синее, красное, зеленое и фиолетовое окрашивание. Эта реакция удается только в том случае, если исследуемый материал на предметном стекле хорошо высох.

2. Очень небольшое количество вполне сухого холестерина растворяют в ледяной уксусной кислоте и прибавляют несколько капель концентрированной серной кислоты. Образуется фиолетовое окрашивание, быстро переходящее в темнозеленое.

Для определения билирубина на остаток, полученный после центрифугирования, наливают немного разведенной натронной щелочи и центрифугируют. Желчный пигмент переходит в раствор; жидкость сливают и исследуют на присутствие билирубина посредством любой качественной пробы на билирубин (см. «Моча», стр. 331). Осадок состоит из известковых солей.

Присутствие углекислого кальция можно доказать, прибавляя соляную кислоту (шипение и выделение газа).

2) **Каловые камни, кишечные камни и камни поджелудочной железы.** Каловыми камнями, или копролитами, называют те камнеподобные образования, которые состоят из уплотнившихся каловых масс. Они образуются главным образом в тех отрезках толстой кишки, где чаще всего происходит задержка каловых масс, т. е. в области перегибов или в червеобразном отростке. Копролиты по консистенции очень тверды и могут достигать таких размеров, что совершенно закрывают просвет кишок и вызывают полную закупорку. Истинные кишечные камни (энтеролиты) гораздо меньше по размеру и по своему характеру значительно более походят на камни другого происхождения — мочевые, желчные. Они состоят обычно из органического ядра, на котором отлагаются соли минеральных солей — чаще всего фосфатов.

Различают несколько форм энтеролитов.

а) Типичные кишечные камни — шарообразные тяжелые твердые образования; на разрезе они отличаются концентрической слоистостью и содержат внутри инородное тело, являющееся ядром конкремента.

б) Более легкие камни состоят главным образом из непереваренных остатков растительных продуктов и инкрустированы фосфорнокислыми солями. Ясно выраженного ядра и слоистости в них нет. Сюда относятся так называемые «овсяные» камни, которые могут образовываться после длительного употребления в пищу больших количеств овсянки.



в) Камни, образующиеся из принятых внутрь лекарств, состоят обычно из нерастворимых или трудно растворимых лекарственных веществ, принимаемых в форме порошков, как, например, салол, магнезии, углекислой извести и т. п.

г) Кишечный песок состоит из мелких твердых зерен, образующихся обычно из органического вещества, углекислой извести и фосфорнокислой аммиак-магнезии. Нередко кишечный песок состоит только из каменных клеток.

Камни поджелудочной железы весьма редко удается найти в фекальных массах. Они легко крошатся и имеют неровную поверхность. Камни состоят из углекислой и фосфорнокислой извести. В литературе описаны случаи, когда в таких камнях удавалось обнаружить холестерин и желчные пигменты.

Ход исследования. Для исследования состава конкремент распиливают и часть измельченного камня сжигают на платиновой лопатке или тигле. Если большая часть порошка сгорает, то главная масса камня, очевидно, состоит из органической субстанции. В таких случаях обычно удается уже посредством микроскопического исследования выяснить состав конкремента. Если же камень при сжигании только обугливается, причем получается большой остаток, то в состав его входят главным образом неорганические вещества.

Качественное исследование остатка производят следующим образом. Небольшую частицу размельченного в порошок камня переносят в пробирку, обливают разведенной соляной кислотой и слегка нагревают. Если прибавление соляной кислоты вызывает образование газа, то это указывает на присутствие углекислых солей. Нерастворимая в соляной кислоте часть состоит преимущественно из органических кислот. Ее подвергают микроскопическому исследованию, для чего солянокислый раствор отделяют от осадка посредством центрифугирования или фильтрования. Раствор может содержать фосфорнокислые соли (извести или магнезии), щавелевокислую известь, аммиак и следы белковых веществ. Ход определения этих составных частей такой же, как и при исследовании мочевых камней (см. соответствующую главу).

## ГЛАВА СЕДЬМАЯ ПРОСТЕЙШИЕ

### ВИДЫ ПРОСТЕЙШИХ, ИХ МОРФОЛОГИЯ И ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ

К простейшим принадлежат микроскопически мелкие животные, тело которых за немногими исключениями состоит из одной клетки. Большинство простейших — свободно живущие животные, и лишь немногие ведут паразитарный образ жизни в теле других животных и человека. Простейшие делятся на четыре класса: корнежки, жгутиковые, споровики и ресничные. У человека паразитируют представители всех четырех классов. Общее число паразитирующих видов невелико. Из этого небольшого числа только два имеют несомненное патологическое значение: это дизентерийная амеба (*Entamoeba histolytica*), принадлежащая к классу корнежечек, и балантидий (*Balantidium coli*) — представитель класса ресничных. Патологическое значение остальных представляется спорным.



Простейшие встречаются в активном, подвижном состоянии и в инцистированном виде (морфологию и жизненный цикл — см. ниже). Нахождение подвижных форм, благодаря их нежной структуре, представляет трудную задачу и требует применения особых мер предосторожности.

Для более точного дифференцирования и изучения деталей строения цист и активных форм применяется исследование фиксированных окрашенных препаратов. Культивирование простейших — трудная задача; оно до настоящего времени не получило распространения.

## RHIZOPODA — КОРНЕНОЖКИ

К классу корненожек принадлежат различные виды амёб, паразитирующих в кишечнике человека. Все они относятся к отряду амёбовидных (Amoebinae), который характеризуется тем, что тело паразита представляет голый комочек протоплазмы, лишенный всякой оболочки. Протоплазма амёбовидных делится на два слоя: наружный, гомогенный, (так называемая *эктоплазма*) и внутренний, зернистый, заключающий ядро и пищеварительные вакуоли (*эндоплазма*). Питаются они бактериями, детритом кишечника, эритроцитами человека, захватывая пищу псевдоподиями. Передвижение происходит тоже при помощи псевдоподий, причем во время движений форма тела амёбы все время меняется. Отсюда и название «амёба», что означает непостоянство формы. Размножаются бесполым путем, простым множественным делением, обычно под оболочкой цисты. Половое размножение нельзя считать доказанным. В организме человека амёбы встречаются в трех стадиях: 1) в стадии активной, хорошо подвижной формы (трофозоитной), 2) в стадии прецисты — мало подвижной, и 3) в стадии цисты — неподвижной. Причины перехода одной стадии в другую не выяснены.

Переход этот происходит не сразу, а постепенно. Переходный период характеризуется уменьшением объема, исчезновением пищеварительных вакуолей и уменьшением подвижности. Эта переходная стадия носит название стадии прецисты. Прециста по окончании всех подготовительных процессов превращается в покоящуюся стадию, или цисту. Цисты выносятся с калом во внешнюю среду, где и остаются до тех пор, пока с загрязненной ими пищей или питьем не попадут в пищеварительный тракт человека или животного. У нового хозяина циста в неизменном виде проходит через рот, пищевод и желудок; лишь в тонких кишках паразит экзистировать, т. е. освобождается из своей оболочки. Из зрелой цисты дизентерийной амёбы, которая либо сразу делится на 4 одноядерных особи, либо предварительно продлевает дальнейшее деление ядра, в результате чего из одной материнской особи сразу выходит 30—40 дочерних паразитов.

1) **Собирание материала.** Для исследования кала на присутствие активных форм амёбы необходимо иметь абсолютно свежий кал. Кал должен быть собран в совершенно чистый и сухой сосуд, так как даже примесь простой воды или мочи губительно действует на нежных паразитов. Сосуд должен к тому же быть слегка подогретым. Больному незадолго перед собиранием материала не следует давать лекарственных веществ, особенно в клизмах, так как эти вещества разрушают паразитов в самом кишечнике. Особенно мешают исследованию масляные клизмы; после масляных клизм, бария или висмута нужно выждать несколько



дней. Исследование следует производить не позже чем через 30—40 минут после дефекации, причем в течение этого времени кал желательно сохранять в теплом месте (лучше всего в термостате).

Описанные предосторожности, как уже сказано, необходимы для нахождения активных форм; для нахождения цист они излишни, так как цисты длительно сохраняются в кале без изменений. Нахождение цист даже облегчается предварительной дачей слабительного. При отыскивании простейших необходимо учитывать одно правило, которое относится ко всем кишечным паразитам: никогда нельзя ограничиваться однократным исследованием, необходимо повторять его несколько раз. В настоящее время считается, что окончательный отрицательный ответ может быть дан только после многократного повторного исследования.

2) **Микроскопическое исследование.** Активные формы исследуют на нативных препаратах и на препаратах фиксированных и окрашенных. Изучение нативного препарата имеет наибольшее значение. Для дифференцирования цист дополнительно применяют обработку раствором иода. Кроме того, для облегчения нахождения цист предложены различные способы концентрации.

Как и при обычном исследовании кала, микроскопическому исследованию должен предшествовать тщательный осмотр невооруженным глазом для отбора материала.

а) **Приготовление нативного препарата.** Если кал оформленный, то небольшая частица (величиной с просыное зерно) размешивается в капле физиологического раствора, положенного на предметное стекло, покрывается покровным стеклом и рассматривается сначала с малым, потом с большим увеличением. Жидкий кал разводить не нужно. Как в оформленном, так и в жидком кале нужно выскивать комочки слизи. На поверхности оформленного кала также иногда встречаются такие комочки; среди них могут быть комочки, приставшие к калу прямо с поверхности язв; в них можно обнаружить активные формы, которых может не быть в кале.

Чтобы наблюдать движение активных форм под микроскопом, необходимо уберечь их от охлаждения: материал кладут на подогретое (но не горячее) стекло, микроскоп и окружающий воздух подогревают, поставив около микроскопа газовую горелку; еще лучше пользоваться нагревательным столиком.

Нахождение амёб облегчается окраской эозином, дифференцирование цист — обработкой иодом.

**Окраска эозином.** К частице кала, положенной на предметное стекло, прибавляют одну каплю 2% раствора эозина в физиологическом растворе, тщательно смешивают и покрывают покровным стеклом. Препарат должен быть не слишком толстым (светлорозового цвета на белом фоне). Изучение препарата обычно начинают с применения малого увеличения. Живые амёбы и цисты окраски не воспринимают; они имеют вид бесцветных или окрашенных в дополнительный (зеленоватый) цвет образований (рис. 244, 245). Отличить их от других неокрашивающихся элементов кала (капли жира, растительные клетки, пузырьки воздуха) нетрудно. Для отличия амёб от лейкоцитов и живых клеток кишечного эпителия приходится прибегать к большему увеличению, лучше всего — к иммерсионной системе. По мере умирания амёбы окрашиваются эозином, причем сначала окрашивается ядро, потом протоплазма; иногда ядро выталкивается из клетки. Цисты дольше не воспринимают окраски. В дальнейшем протоплазма активных форм разрушается; ядро сохраняется несколько дольше.



**Обработка иодом.** Частицу кала смешивают на предметном стекле с крепким иодным раствором (иода 5 г, иодистого калия 10 г, дистиллированной воды 100 см<sup>3</sup>; к отвешенному иоду и иодистому калию приливают воду по каплям и лишь после того, как иод растворится, доливают остальное ее количество). Препарату дают полежать минут 5, после чего его исследуют. Иод окрашивает ядра и облегчает дифференцирование цист дизентерийной амебы от кишечной.

**б) Способы концентрации цист.** Наиболее простой способ состоит в следующем. Кусочек кала величиной с лесной орех размещается в маленькой ступке с небольшим количеством воды; полученная эмульсия тщательно взбалтывается с 500 см<sup>3</sup> воды и затем вливается в высокий стеклянный цилиндр, в котором оставляется приблизительно на 15 минут. Этот срок достаточен, чтобы все более крупные и тяжелые частицы кала опустились на дно цилиндра, а на поверхности жидкости образовался небольшой пенный слой, содержащий самый легкий материал. Этот пенный слой удаляется, вся масса жидкости отсасывается сифоном, за исключением самой нижней части высотой в несколько сантиметров и осевшей на дно массы, которые выливаются. Отсосанная жидкость помещается в другой высокий цилиндр и оставляется в нем на всю ночь, в течение которой все цисты с некоторым количеством элементов кала осядут на дно цилиндра. На другой день вся отстоявшаяся жидкость опять отсасывается сифоном и выбрасывается, а осадок, содержащий цисты, промывается несколько раз путем встряхивания с водой и центрифугирования. Полученный таким образом осадок содержит в себе только самые мелкие частицы кала, относительно небольшое количество бактерий и главным образом цисты. Если желательно ускорить эту процедуру, то первоначальную жидкость, освобожденную от грубого калового осадка после 15-минутного стояния в цилиндре, можно сразу центрифугировать и полученный осадок повторно промыть водой, как описано выше. Хорошие результаты дает также метод Телемана (см. стр. 580).

**в) Приготовление фиксированных окрашенных препаратов** требует очень много времени, но зато является самым надежным способом дифференциального распознавания отдельных видов. Лучшим способом является окраска железным гематоксилином по Гейденгайну.

**Реактивы:** 1) жидкость Шаудина: смесь одного объема 96° винного спирта с двумя объемами насыщенного водного раствора сулемы; (способ приготовления раствора сулемы — см. стр. 550; определение уробилина); к смеси добавляется крепкая уксусная кислота в количестве 3—5% к общему объему; смесь желательно готовить перед употреблением и употреблять по догретой до 40—50°; насыщенный раствор сулемы можно держать готовым в запасе; 2) спирт 70 и 96°; 3) спирт-иод, т. е. 70° спирт, к которому добавлена иодная настойка до цвета португальского вина; 4) 4% водный раствор железосиньки для протравы и 2—2,5% раствор тех же квасцов для дифференцирования; квасцы должны быть бледнолилового цвета, не покрытые желтым налетом; 5) карболксилон и ксилон; карболксилон состоит из одной части кристаллической карболовой кислоты и трех частей ксилола; 6) канадский бальзам, или пихтовый; 7) раствор гематоксилина: 1 г кристаллического гематоксилина растворяют в 10 см<sup>3</sup> 95° спирта и доливают дистиллированной воды до 100 см<sup>3</sup>; раствор должен созреть, для чего ему дают постоять 3—4 недели в бутылке, слегка закрытой ватой. Бутылка выставляется на свет в теплом помещении. Перед употреблением нужное для окраски количество разводится наполовину дистиллированной водой. После употребления краска не выбрасывается, а сливается



в другую склянку, так как она годна для многократного употребления. Старую краску нужно фильтровать перед употреблением.

**Посуда.** Чашки Петри или, лучше, чашки Коха среднего размера; плоские баночки с притертыми крышечками, а за неимением их биксы, или баночки из-под мазей со стеклянными крышками; мерительный цилиндр, пинцеты, препаровальные иглы, покровные и предметные стекла.

**Приготовление мазков и фиксация.** Выбирают комочек слизи и тонкой лучинкой наносят частицу его на край покровного стекла. Этим намазанным краем быстро делают мазок на другом покровном стекле и тотчас, пока мазок еще влажен, опускают стекло намазанной стороной вниз на поверхность жидкости Шаудина, налитой в чашку Петри или Коха. При правильном опускании стекло плавает на поверхности жидкости. Если слизистых комков нет, готовят препарат из каловых масс. Для каждого исследования желательно изготовить 6—8—10 препаратов.

Через 20—30 минут пинцетом переносят стекла в баночку с 70° спиртом на 5—10 минут. Стекла должны свободно помещаться на дне баночки; при помещении в спирт и дальнейшей обработке стекла кладут мазком кверху. Для окончательного удаления сулемы препарат переносят пинцетом в спирт-иод на 5—10 минут. Для удаления иода препарат снова помещают в 70° спирт на 5 минут (стекла все время переносят пинцетом). На этом фиксация заканчивается. Если окраска не может быть произведена сразу, то препараты в этом спирту могут оставаться 1—2 дня.

**Протравливание и окраска.** Вынимают препарат из спирта и тщательно промывают его дистиллированной водой в течение 3—5 минут. Помещают в баночку (бикс) с 4% раствором квасцов (реактив 4) на 6—12 часов, чем достигается протравливание. Быстро ополаскивают препарат дистиллированной водой. Помещают в чашку Петри с раствором гематоксилина, в котором оставляют при комнатной температуре на 12—24 часа или при 50° на 40 минут. Промывают препарат дистиллированной водой.

**Дифференцирование.** Дифференцирование является наиболее трудным и ответственным моментом окраски. В гематоксилине препарат перекрашивается в равномерный черный цвет. После этого требуется удалить излишек краски для выявления структуры простейших. Удаление излишка краски производят 2—2,5% раствором квасцов под контролем микроскопа вначале с малым, а потом с большим увеличением (лучше всего с иммерсией). Препарат, промытый водой, осторожно обтирают тряпочкой со стороны, противоположной мазку (стирают осадок краски), и помещают на мостик, сделанный на предметном стекле из двух наклеенных на стекло стеклянных полосок. Раствор квасцов пипеткой впускают под покровное стекло. Для наблюдения за дифференцированием отыскивают амебу, цисту или лейкоцит. Дифференцирование прекращают в тот момент, когда на сером фоне протоплазмы отчетливо выступают резкие черные хроматиновые структуры ядер и такие же черные хроматондные тельца, или эритроциты.

Когда не удастся найти цисты или другой подходящий объект, можно производить дифференцирование по общему фону окраски. Черный фон по мере просветления изменяется: дифференцирование заканчивают, когда появляется серо-лиловый фон (не коричневый или желтый, что указывает на то, что препарат перетянут).

После дифференцирования препарат промывают водопроводной водой (лучше проточной) от 40 минут до 1 часа.

**Обезвоживание, просветление и заключение в канадский бальзам.** Препарат вынимают из воды. Держа его ребром



на полоске фильтровальной бумаги, дают воде стечь на фильтровальную бумагу, затем погружают препарат сначала в 70° спирт, потом в 96°, далее вторично в 96° (в другую баночку). В каждом спирту оставляют примерно на 2 минуты. Препарат при этом обезвоживается.

Переносят препарат в карболксилол (реактив 5) на 2 минуты и из него в ксилол на 1 минуту; в ксилол, как и в 96° спирт, погружают двукратно. Препарат при этом просветляется.

Достаточная степень просветления препарата определяется его прозрачностью на черном фоне. Если на препарате остаются белые или матовые пятна, надо слить карболксилол, снова опустить препарат на короткое время в 96° спирт и затем опять приступить к просветлению.

Препарат заключают в канадский или пихтовый бальзам: стеклянной палочкой кладут на предметное стекло небольшую каплю бальзама и на эту каплю осторожно накладывают препарат намазанной стороной книзу, избегая образования пузырей воздуха. Если все же они появились, то можно попытаться удалить их легким нажиманием покровного стекла. Препараты, заключенные в бальзам, сохраняются много лет без изменений.

г) Микроскопическое измерение. При определении вида простейших (а также яиц глистов) размер паразита или цист играет нередко решающую роль, поэтому необходимо уметь измерять их. Микроскопическое измерение производят при помощи специального окуляра, в который ввинчивается или вставляется измерительная линейка. Имеются и такие линейки (окуляр-микрометры), которые вкладываются в любой окуляр. На измерительной окулярной линейке нанесена шкала в 0,5 см, размеченная на 50 делений, или в 1 см — со 100 делениями. Деления окулярной линейки при измерениях не имеют абсолютного значения, а являются условными единицами, линейное значение которых должно быть заранее вымерено для каждого микроскопа отдельно в отношении каждой комбинации оптических систем. Для этой цели служит объективная линейка (на предметном стекле, иногда оправленном металлом), называемая также предметным микрометром. На этой линейке 1 мм разделен на 100 частей, следовательно, каждое деление объективной линейки равно 0,01 мм. Помещая эту линейку под микроскопом, как обычно помещают рассматриваемый препарат, находят эти деления. Затем меняют простой окуляр на окуляр-микрометр; тогда под микроскопом видны как деления окуляр-микрометра, так и деления объективной линейки, расположенные в одной плоскости. Помещают объективную линейку так, чтобы ее деления покрывали деления окуляр-микрометра, и отыскивают такое место, где определенное число делений окуляр-микрометра полностью совпадает с некоторым числом делений объективной линейки. Исходя из этого, вычисляют величину одного деления окуляр-микрометра.

Пример. Допустим, что 7 делений окуляр-микрометра совпадают с 20 делениями объективной линейки. Одно деление объективной линейки равно 0,01 мм, 20 делений ее равны 0,2 мм.

7 делений окуляр-микрометра, равные 20 делениям объективной линейки, составляют 0,2 мм. Отсюда одно деление окуляр-микрометра равно  $0,2 \text{ мм} : 7 = 0,02857 \text{ мм}$ , или 28,57  $\mu$ . В целях удобства желательно составить таблицы для определенного объектива и определенного окуляра данного микроскопа. При наличии постоянных таблиц измерение отнимает 5—10 секунд. Приводим таблицу измерений к микроскопу Цейсса № 266807 (табл. 51).



Таблица 51

Объектив	Скуляр	Размер одного деления окуляр-микрометра в микронах
8 (фабричный № 29948) . . . . .	H10X	18
8 (фабричный № 29948) . . . . .	7X	20,8
40 (фабричный № 21390) . . . . .	H10X	3,68
40 (фабричный № 21390) . . . . .	7X	4,2
Масляный иммерсионный № 27679	H10X	1,74
» » № 27679	7X	2,0

## ВИДЫ АМЕБ

В кишечнике человека чаще всего встречаются: дизентерийная амeba (*Entamoeba histolytica*), кишечная амeba (*Entamoeba coli*), карликовая амeba (*Endolimax nana*) и иодамeba Бючли (*Jodamoeba butschlii*).

1) *Entamoeba histolytica* — дизентерийная амeba впервые описана в 1878 г. Лешем в Петербурге (Ленинграде). В кишечнике человека она встречается в трех упомянутых стадиях: активной, стадии прецисты и цисты.

Активная, или трофозоитная, стадия (рис. 237, 238, 1 и 245) по размеру больше двух других и потому носит название *Entamoeba histolytica forma magna*. Она называется также тканевой формой, так как она инвазирует кишечную стенку, вызывая ее изъязвление. Слизь и гной, покрывающие язву, содержат много амeb. При очищении язв амebы попадают в фекальные массы и могут быть обнаружены при микроскопическом исследовании свежесвыделенного кала. В спокойном состоянии амeba имеет круглую форму; диаметр ее 15—20—30—40—50 м, в вытянутом состоянии 60—70—80 м. Протоплазма ее резко разделена на эктоплазму,

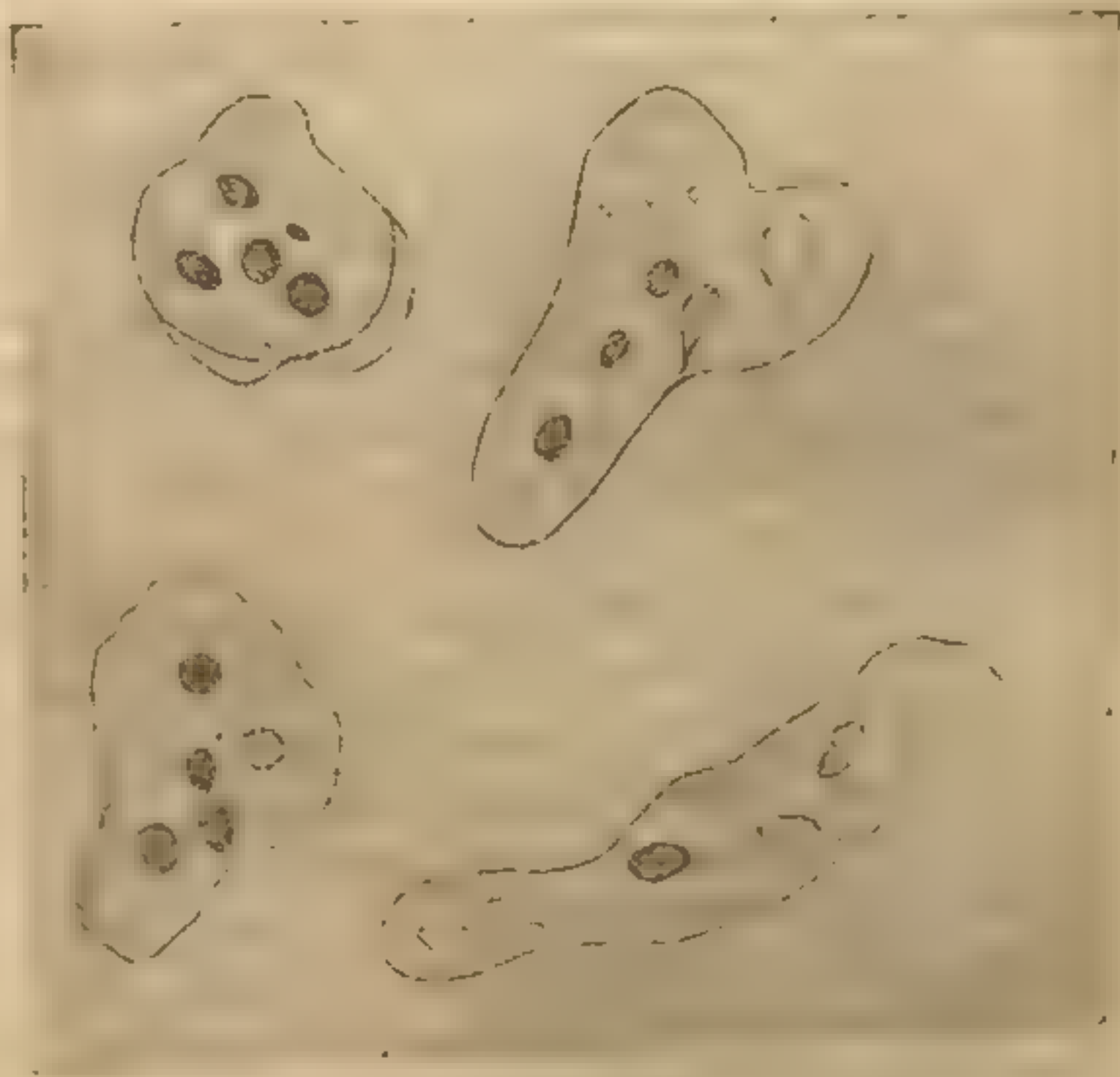


Рис. 237. Дизентерийная амeba — *Entamoeba histolytica*. Вегетативные формы с заглоченными эритроцитами. Увеличение в 500 раз.

светлую, гомогенную, без каких-либо включений, и эндоплазму, занимающую значительно больший объем и имеющую зернистое строение. Ядро, лежащее в эндоплазме, на свежем материале обыкновенно плохо различимо. В теле паразита нередко встречаются заглоченные эритроциты, число которых может достигать до 30—40. Наличие эритроцитов считается одним из самых важных отличительных признаков. Эритроциты просвечивают в виде округлых желтоватых телец; по мере переваривания диаметр их уменьшается.

Движение амebы происходит при помощи довольно длинных пальцеобразных псевдоподий. Образование псевдоподий происходит внезапно,



быстро. Наиболее активное движение происходит при температуре тела и при pH, равном 6,5.

В обычном состоянии дизентерийная амеба обладает: 1) чрезвычайной подвижностью, связанной с энергичным образованием стекловидных эктоплазматических псевдоподий, резко отличающихся от зернистой эндоплазмы; 2) частым присутствием заглоченных эритроцитов. На фиксированных и окрашенных препаратах резко выступает совершенно черное ядро, расположенное большей частью эксцентрично в протоплазме. Око

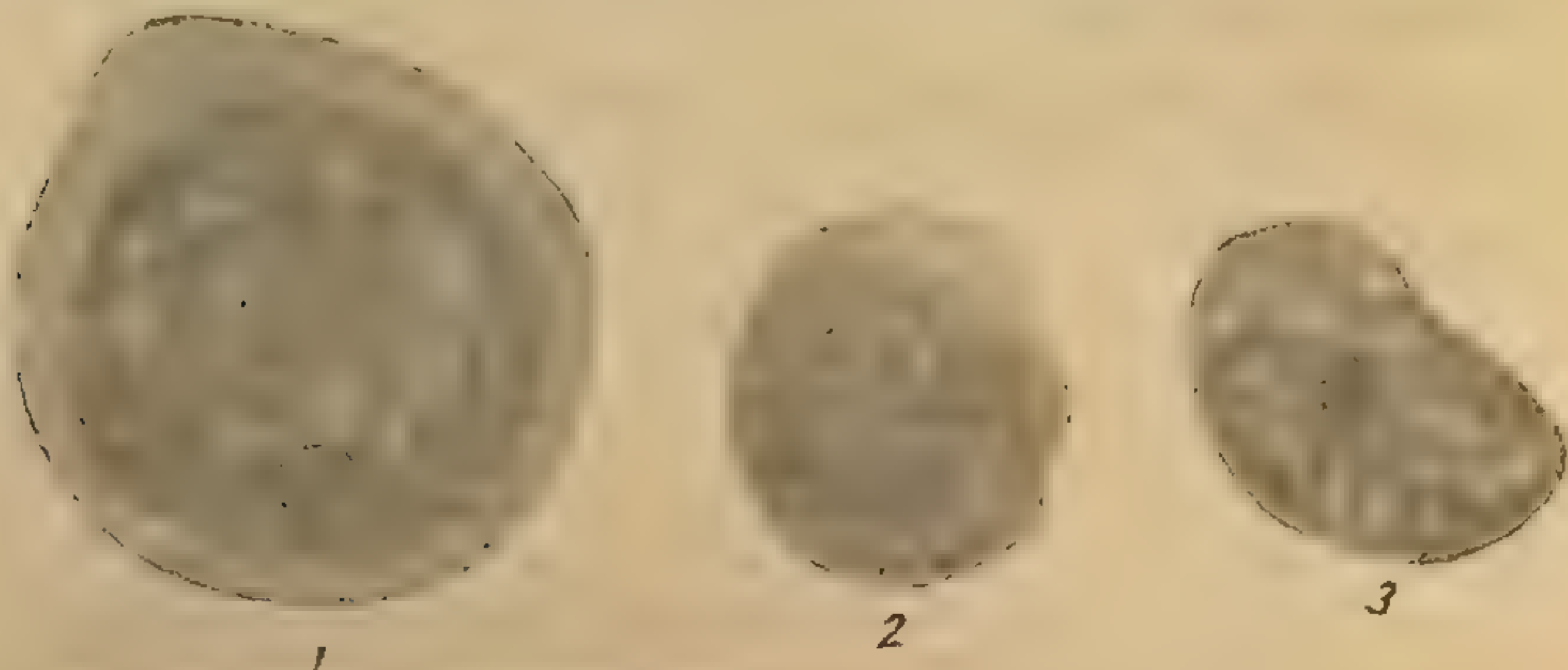


Рис. 238. Дизентерийная амеба, вегетативные формы. Увеличение в 1 250 раз.

1 — большая вегетативная форма (*forma magna*) в живом состоянии; 2 — малая форма (*forma minuta*) в живом состоянии; 3 — малая форма, фиксированная и окрашенная железным гематоксилином.

состоит из тонкой оболочки и содержит маленькую кариозому. Ядро в общем бедно хроматином. Хроматиновые зерна располагаются дозольно равномерно, преимущественно под оболочкой ядра. Заглоченные эритроциты окрашиваются так же, как и ядро, в черный цвет.

*Entamoeba histolytica forma magna* встречается в слизисто-кровянистых испражнениях в остром периоде болезни.

*Entamoeba histolytica forma minuta* (форма прецисты, просветная форма, рис. 238, 2 и 3) в противоположность предыдущей форме живет в просвете кишок — в содержимом толстой кишки. Прецисты образуются в конце вегетативного периода жизни *Entamoeba histolytica forma magna* в ее типичном состоянии: крупные вегетативные формы превращаются в более мелкие прецистные формы, размеры которых сначала в среднем равны 20—25  $\mu$ , но в дальнейшем мельчают и доходят до 6—10  $\mu$ . Движения их значительно менее активны, псевдоподии короче и шире, деление на экто- и эндоплазму менее резко. Прецисты не заглатывают эритроцитов. Перед инцистированием *Entamoeba minuta* совершенно теряет подвижность; в ней появляется гликогеновая вакуоль и хроматидные тельца то в виде палочек, осколков, то в виде зерен различной величины.

Прецисты встречаются в полужидких испражнениях в период ослабления болезненных симптомов и в хронических случаях. Наряду с ними, могут встречаться как вегетативные формы, так и цисты. Как уже было упомянуто, прецисты дизентерийной амебы очень трудно отличимы от прецист других амеб.

Цисты (рис. 239 и 240) на неокрашенных препаратах имеют вид круглых или слегка овальных бесцветных телец с тонкой бесцветной двуконтурной оболочкой. Диаметр их в среднем 12—14  $\mu$ , предельные размеры 5—20  $\mu$ . Зрелые цисты обычно содержат 4 ядра; наряду с ними могут



встречаться незрелые, содержащие 1—2 ядра. Ядра едва выступают в виде маленьких колечек, составленных из отдельных зерен. В некоторых цистах, чаще в одно- и двуядерных, видна большая так называемая гликогеновая вакуоль, содержащая запасное питательное вещество; иногда бывает даже 2 или 3 вакуоли. При подкрашивании раствором иода ядра



Рис. 239. Дизентерийная амеба. Цисты с 1, 2 и 4 ядрами и гликогеновой вакуолью. Нефиксированный препарат, обработанный иодом. Увеличение в 1250 раз.

отчетливо видны, гликогеновые вакуоли выступают в виде резко очерченных темнокоричневых или красноватых пятен. Максимальное число ядер—четыре в отличие от *Entamoeba coli*, цисты которой содержат до 8 ядер.

Кроме ядер и гликогена, цисты содержат своеобразные образования, которые в живой цисте выделяются своим светопреломлением, а в окрашенном препарате — своим жадным поглощением красок. Эти образова-



Рис. 240. Дизентерийная амеба. Цисты с 1, 2 и 4 ядрами, фиксированные и окрашенные железным гематоксилином.

1—5 — цисты с гликогеновой вакуолью и хроматоидными тельцами; 6—7 — цисты без гликогеновой вакуоли; 8 — циста без хроматоидных телец и вакуоли. Увеличение в 1250 раз.

ния чаще встречаются в одно- двуядерных цистах, чем в четырехъядерных. Это продолговато-овальные, глыбчатые или сигарообразные тела, которых может быть одно или несколько. Тела эти носят название хроматоидных. Происхождение и химическая природа хроматоидных телец не выяснены. Однако они могут служить для дифференциального распознавания цист дизентерийной амебы, так как в зрелых цистах кишечной амебы они часто отсутствуют или находятся в рудиментарном состоянии.

Иногда встречаются атипичные цисты (Эпштейн) — цисты с перетяжками, неправильно контурированные, с ядрами различной величины, уродливыми по форме, или даже совсем безъядерные. Незрелые цисты, вышедшие с фекалиями, продолжают созревать.



Цисты встречаются только в оформленном стуле; в жидком они, как правило, отсутствуют. Выделение их колеблется в широких пределах: иногда можно найти 8—10 в одном препарате; в других случаях приходится просмотреть целую серию препаратов, чтобы найти одну цисту. Выделение цист облегчается назначением слабительных и клизм.

Заражение человека происходит главным образом при заглатывании цист с загрязненной пищей и водой. Цисты проходят, не изменяясь, через желудок и экцистируются в тонких кишках. Дочерние амебы, выходящие из цист, здесь и основываются.

Язвы, вызываемые инвазированием дизентерийной амебы, локализуются преимущественно в илеоцекальной области, *flexurae sigmoideae* и в прямой кишке, но могут встречаться и в нижней части тонких кишок. Величина язв колеблется от едва видимых простым глазом до размеров, занимающих всю слизистую кишечника.

2) *Entamoeba dispar* (Brumpt) (амеба диспар) очень сходна с дизентерийной амебой, но меньших размеров (в покоем состоянии — 10—20  $\mu$  в диаметре). Движения менее оживленные, чем у дизентерийной амебы; фагоцитированных эритроцитов не содержит. Структура ядра такая же, как у *Entamoeba histolytica*. Главное отличие этой амебы от дизентерийной, помимо отсутствия заглоченных эритроцитов, в том, что даже при сильных поносах она никогда не дает больших вегетативных форм. Цисты ни в свежем препарате, ни в окрашенном отличить от цист дизентерийной амебы невозможно. Большинство авторов считает ее непатогенной и объясняет указываемые высокие цифры носительства цист дизентерийной амебы, особенно в умеренной полосе, неправильным отношением цист *Entamoeba dispar* и нижеописываемой *Entamoeba hartmanni* к цистам дизентерийной амебы. Однако есть авторы, которые считают, что она представляет вариант дизентерийной амебы.

3) *Entamoeba hartmanni* — амеба Гартмана — еще меньших размеров, чем предыдущая (4—10  $\mu$  в диаметре), с ядром, также сходным с ядром дизентерийной амебы. Зрелые цисты 6—9  $\mu$  в диаметре содержат 4 ядра и также по строению очень похожи на мелкие цисты дизентерийной амебы (рис. 246). Амеба эта не патогенна, однако ряд авторов считает ее также мелкой расой дизентерийной амебы.

Видовая самостоятельность этих двух видов амеб сомнительна.

4) *Entamoeba moschkowsky* — амеба Мошковского — была обнаружена при исследовании сточных вод и описана Чалой в 1941 г. У человека эта амеба не встречается. По морфологии она также сходна с дизентерийной амебой. Дифференциальным признаком ее является то: 1) что ядра в вегетативных формах различной величины, в то время как у дизентерийной все ядра одинаковой величины, 2) что оболочка цист этой амебы более грубая и часто пористая.

5) *Entamoeba coli* — кишечная амеба (рис. 241, 242, 243 и 244) — по морфологическим признакам очень близка к дизентерийной амебе. Ввиду громадной разницы между патогенным значением этих двух видов амеб, дифференциальное распознавание их является крайне важным. Как и дизентерийная амеба, кишечная может встречаться в активной форме, в стадии прецисты и стадии цисты. Цисты кишечной амебы очень часто попутно находят при микроскопическом исследовании кала. Для нахождения подвижных вегетативных форм нужно соблюдать указанные выше предосторожности.

Средний размер активных форм 20—40  $\mu$ , однако встречаются экземпляры от 10 до 70  $\mu$ . В отличие от дизентерийной амебы эктоплазма от эндоплазмы разграничена неясно.



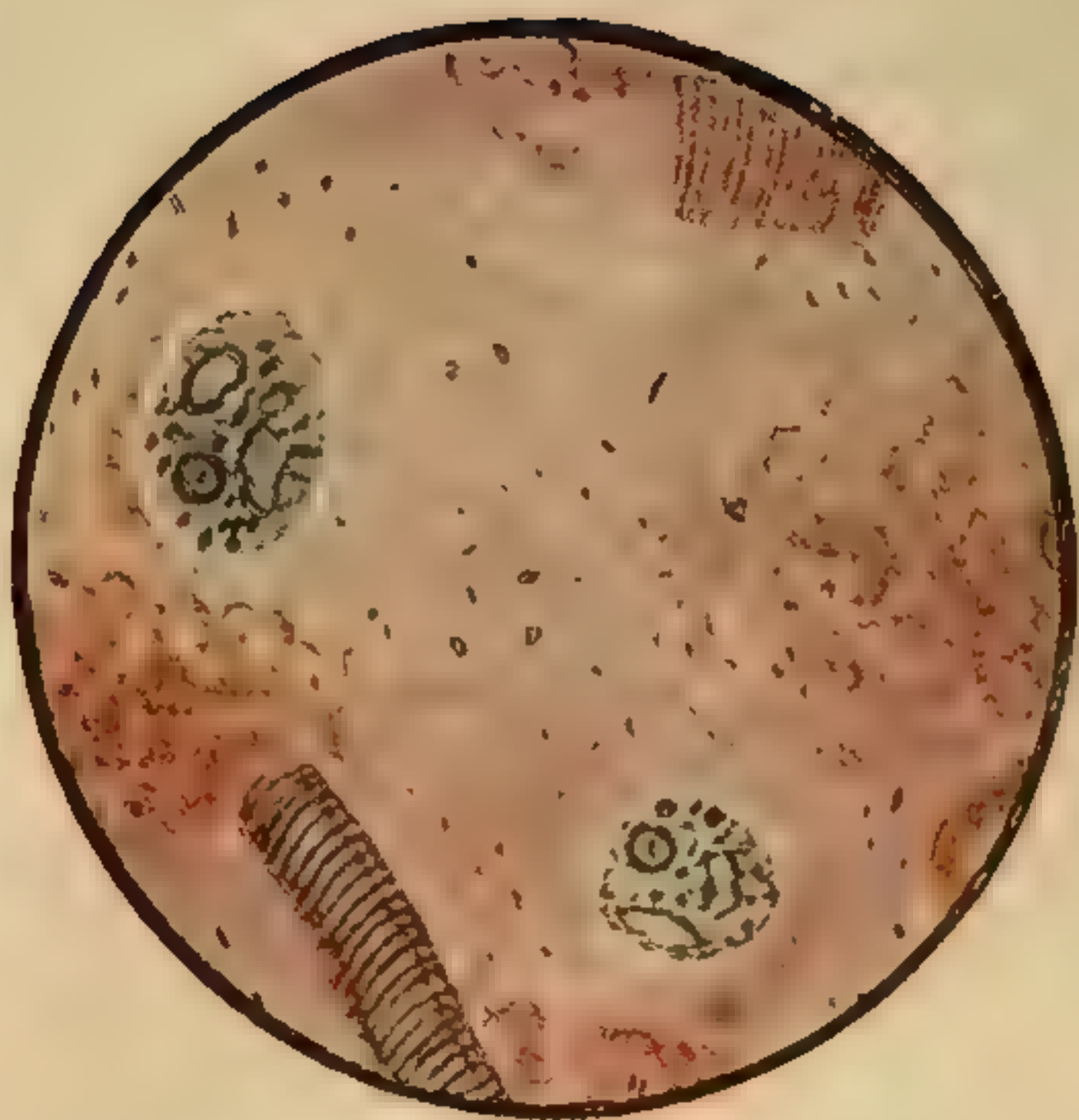


Рис. 244. Кишечная амеба. Вегетативные формы в покое, растительная клетчатка и другие элементы кала. Окраска эозином. Увеличение в 500 раз.

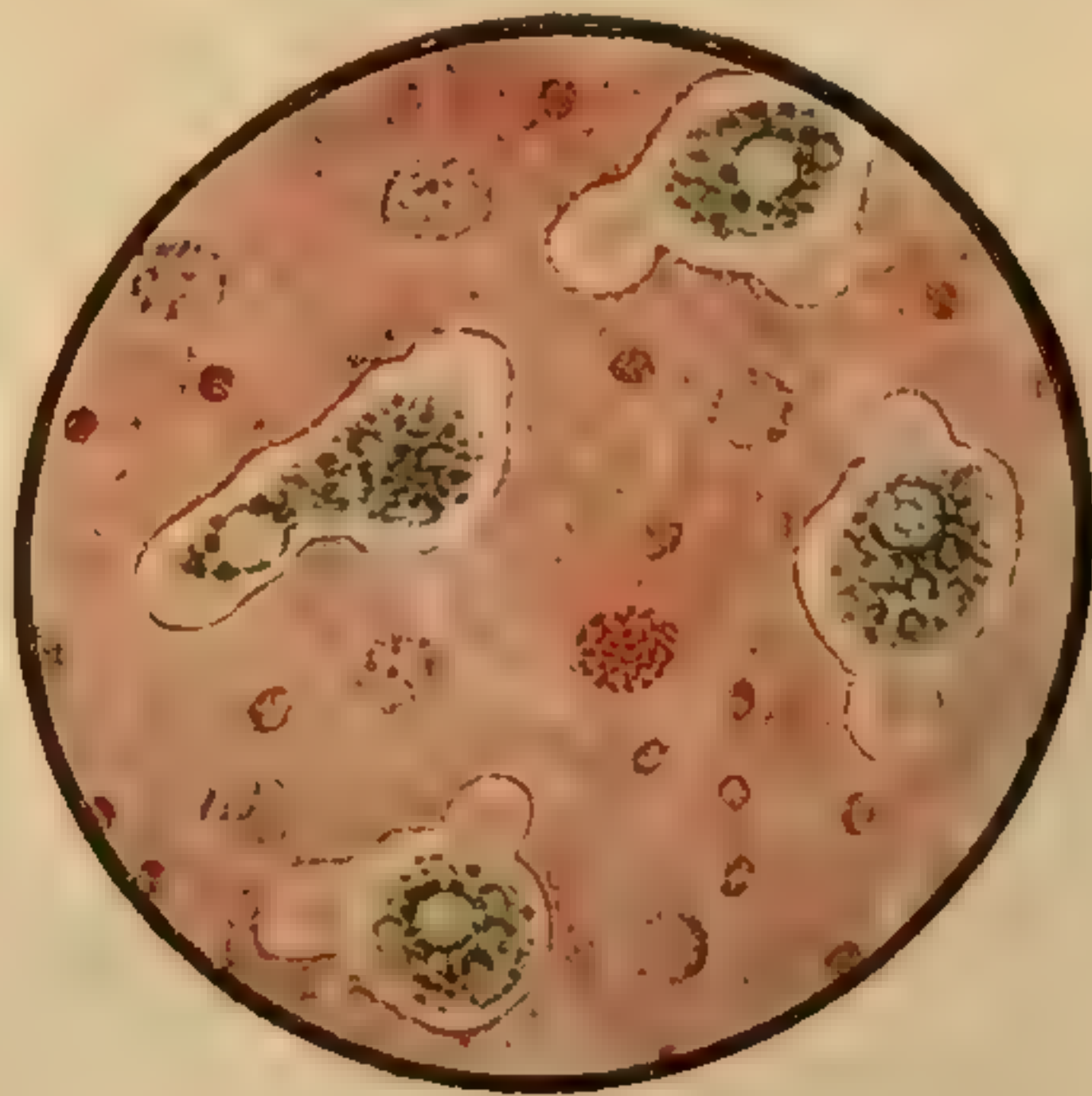


Рис. 245. Дизентерийная амеба в испражнениях. Вегетативные формы в различных фазах движения, эритроциты, лейкоциты. Окраска эозином. Увеличение в 500 раз.



прочным и  
бактери  
и т. д.  
становит  
терий и  
материал  
Отличитель  
ательно б  
длина, а  
На средин  
ядро. Ост  
на выстр  
у Египта  
прикрас  
трично; м  
тина. Нуж  
маленьким



У живых амёб, только что выделившихся с фекалиями, наблюдается деление на экто- и эндоплазму, однако при комнатной температуре оно исчезает уже через 10—15 минут.

Эктоплазма никогда не бывает светлой, гиалиновой. Эндоплазма грубозернистая, содержит отчетливо видимое ядро в виде колечка из грубых, сильно преломляющих свет зернышек и многочисленные вакуоли



Рис. 241. Кишечная амёба — *Entamoeba coli*.

1—5 — цисты с 1, 2, 4 и 8 ядрами, фиксированные и окрашенные; 6 — циста неправильной формы; 7—9 — цисты с хроматидными тельцами; 10 — цисты различных размеров; 11 — недифференцированная циста; 12 — восьмиядерная циста, нефиксированная, обработанная иодом. Увеличение в 1 250 раз.

с заглоченным материалом. Последний очень разнообразен: в вакуолях видны бактерии, различные кристаллы, пищевые остатки, дрожжевые клетки и т. д., но эритроциты и тканевые клетки хозяина кишечная амёба заглатывает лишь в исключительных случаях. Присутствие заглоченных бактерий и отсутствие эритроцитов является наиболее характерным отличительным признаком кишечной амёбы.

Отличительным признаком является, далее, характер движения, значительно более вялый, а также медленное, постепенное образование псевдоподий, а не внезапное, толчкообразное.

На окрашенных препаратах наиболее характерным является ядро. Оно гораздо богаче хроматином, чем ядро дизентерийной амёбы: на внутренней стороне оболочки ядра, значительно более толстой, чем у *Entamoeba histolytica*, лежит более толстый слой зерен хроматина, тесно прилегающих друг к другу. Кариозома круглая, лежит всегда эксцентрично; между ней и оболочкой ядра разбросаны отдельные зерна хроматина. Нужно подчеркнуть, что все эти отличия относятся к свежим нормальным особям; с началом дегенерации ядро *Entamoeba coli* начинает



походить на ядро *Entamoeba histolytica*, и в таком состоянии эти два вида различить невозможно.

Прецистная стадия и в живом, и в фиксированном состоянии неотличима от прецист дизентерийной амебы.

Цисты (рис. 241, 242 и 243) в общем значительно крупнее цист *Entamoeba histolytica*, размер их от 10 до 30 и даже до 38  $\mu$ , в среднем 15—20  $\mu$ , оболочка их толще. На неокрашенных препаратах в совершенно прозрач-

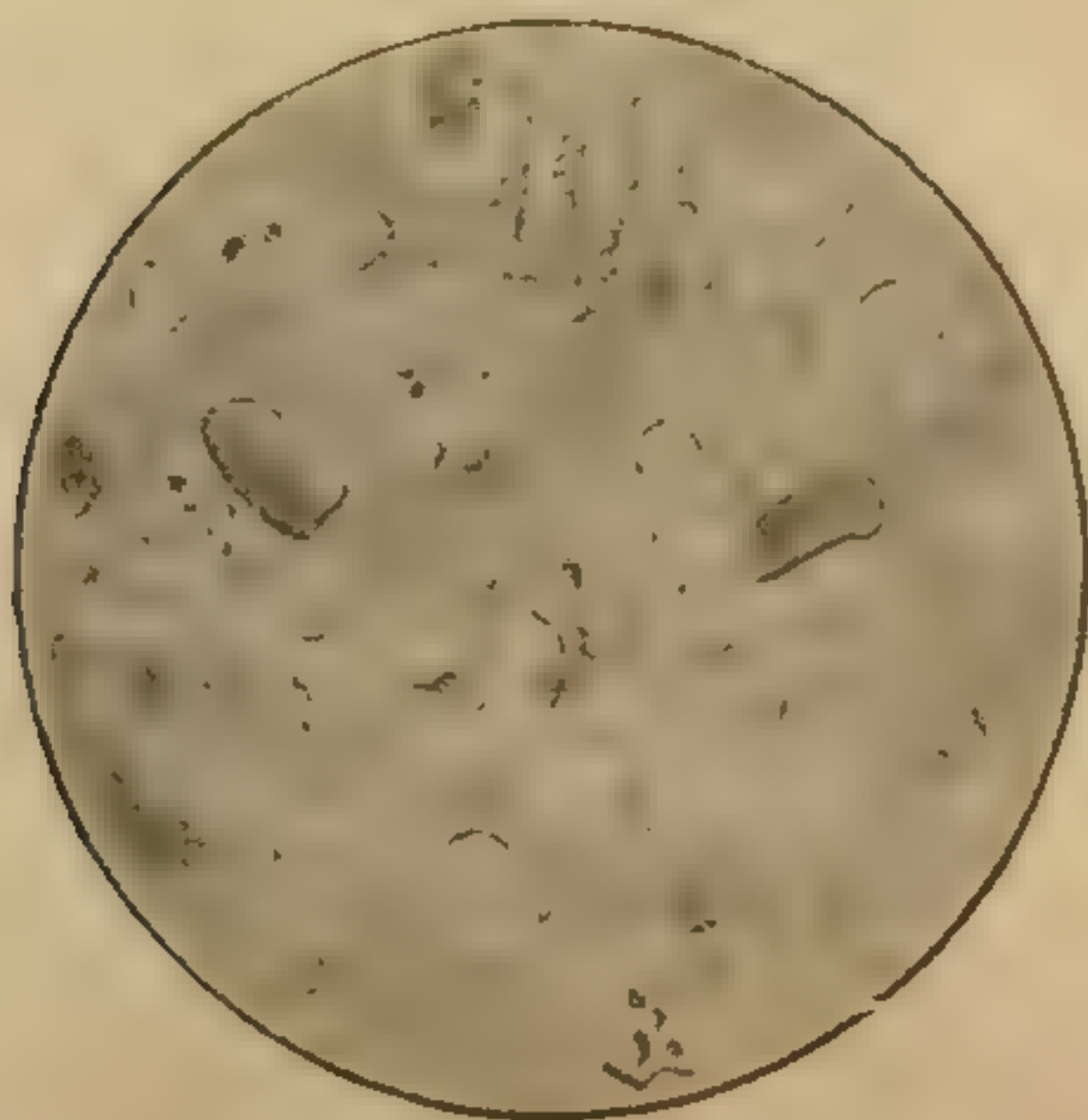


Рис. 242. Кишечная амеба. Цисты в испражнениях. Нативный препарат. Увеличение в 300 раз.



Рис. 243. Кишечная амеба. Цисты в испражнениях. Обработка иодом. Увеличение в 300 раз.

ной протоплазме отчетливо видны ядра в виде сильно преломляющих свет колечек с эксцентрично лежащими кариозомами. Число ядер от 1 до 8. В дву- и четырехъядерных цистах ядра располагаются по краям и сильно отодвинуты друг от друга. Цисты с восемью ядрами представляют самую частую находку. Четырехъядерные цисты, характерные для дизентерийной амебы, встречаются крайне редко. В одно- двуядерных цистах содержится гликогеновая вакуоль в виде большой светлой зоны неправильной формы; при созревании цист она нередко исчезает.



Рис. 246. Амеба *hartmanni*, дизентерийная амеба и кишечная амеба — различные размеры цист.

1 и 2—амеба *hartmanni*; 3 и 4—дизентерийная амеба; 5—6 кишечная амеба. Увеличение в 1250 раз (схематический рисунок)

На окрашенных препаратах в незрелых цистах нередко видны хроматидные тельца в виде неправильных осколков или палочек с заостренными концами, отличаясь, таким образом, от таковых в цистах дизентерийной амебы. В зрелых цистах хроматидные тельца нередко отсутствуют, что также отличает их от цист дизентерийной амебы. Характерным отличием, далее, является строение ядра, напоминающее в общем строение ядра активной формы.



Отличительные признаки  
*Entamoeba histolytica* и *Entamoeba coli*

	<i>Entamoeba coli</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>
	<i>Вегетативные формы (трофозоиты)</i>	
Размеры	15—60 $\mu$	10—70 $\mu$
Эктоплазма	Отчетливо отделяется от эндоплазмы, резко преломляет свет	Слабо отделяется от эндоплазмы, слабо преломляет свет
Эндоплазма	Содержит многочисленные эритроциты (1—14 и больше)	Содержит эритроциты лишь в редких случаях
Псевдоподии	При 20—25° образуются быстро, толчками	При 20—25° образуются медленно
Подвижность при 20—25°	Очень оживленная	Очень слабая
Ядро	Маленькое, в свежих препаратах плохо различимое расположено периферически, содержит 1 кариозому	В свежих препаратах видно лучше, расположено субцентрально, иногда содержит несколько кучек хроматина
Кариозома	Центральная или субцентральная	Расположена эксцентрически
	<i>Цисты</i> <sup>1</sup>	
Размеры	5—20 $\mu$ , в среднем 12—14 $\mu$	10—32 $\mu$ , в среднем 15—20 $\mu$
Оболочка	Тонкая одноконтурная	Толстая двуконтурная
Число ядер	4 в зрелых цистах, 1—2—3 в молодых	8 в зрелых цистах, 1—2—3 и т. д. в остальных
Сидерофильные включения (хроматоидные тела)	Объемистые, палочковидные, с округленными концами, встречаются во всех стадиях	Остроконечной формы; в зрелых цистах встречаются редко

Соотношение размеров цист дизентерийной амебы, кишечной амебы и амебы *hartmanni* изображено на рис. 246.

6) **Endolimax nana** — карликовая амеба (рис. 247) — очень распространенный кишечный паразит. Патогенного значения не имеет.

Активная форма (трофозоит) диаметром 6—12  $\mu$ . Протоплазма зернистая; ядро у свежих особей не видно. Заглоченный материал в пищеварительных вакуолях — одни бактерии. Характер образования псевдоподий и движения могут быть сходны с таковыми дизентерийной амебы.

Цисты сферические, диаметром 5—8  $\mu$ , реже овальные — 8—16  $\times$  7—8  $\mu$ . Содержат крупную гликогеновую вакуоль. Число ядер 4—8. Ядра мало заметны. Они имеют вид точек, несколько сильнее преломляющих свет.

На препаратах, окрашенных гематоксилином, структура ядра отчетливо видна только у одноядерных цист; в четырехъядерных цистах детали строения настолько малы, что плохо различимы.

<sup>1</sup> Цисты *Entamoeba dispar* неотличимы от цист *Entamoeba histolytica*.



7) *Jodamoeba bütschlii* — иодамеба Бючли (рис. 248) — очень распространенный кишечный паразит в СССР, не патогенен. Как видно из названия, для этой амебы, вернее, для ее цист, характерна окраска иодом: в протоплазме цисты имеется очень большая постоянная гликогеновая вакуоль, которая от иода окрашивается в цвет темнокрасного дерева.

Активная форма по своим морфологическим признакам напоминает *Entamoeba coli*: характер движений и заглоченного материала тот же. Отличается меньшими размерами (9—17  $\mu$ ) и тем, что ядро не видно на свежих, живых объектах.



Рис. 247. Карликовая амеба — *Endolimax nana*.

1—5 — вегетативные формы, фиксированные и окрашенные; 6—10 — цисты, фиксированные и окрашенные. Увеличение в 1800 раз.

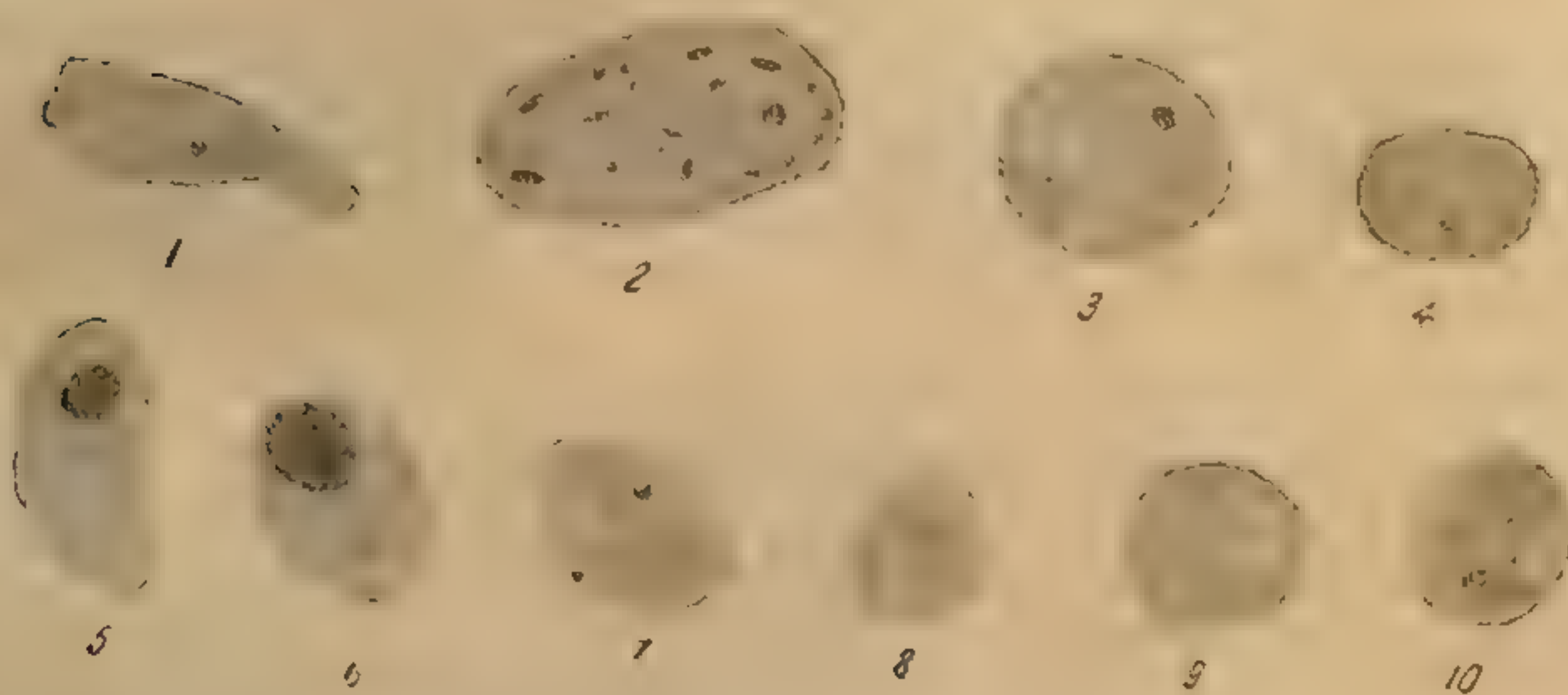


Рис. 248. Иодамеба Бючли — *Jodamoeba bütschlii*.

1—4 — вегетативные формы; 5—10 — цисты. 1 — червеобразной формы; 2 — с заглоченными бактериями; 3 — круглая форма; 4 — перед инцистированием (уплотненная протоплазма без бактерий); 5—6 — обработка иодом нефиксированного препарата; 8—10 — цисты, окрашенные железным гематоксилином. Увеличение в 1250 раз.

Цисты бывают различной формы: круглые, овальные, неправильные — 8—12—20  $\mu$  в диаметре. Оболочка довольно толстая, двуконтурная. Ядро всегда одно, лежит ближе к периферии. О характерной гликогеновой вакуоли только что упоминалось. Гликогеновые вакуоли имеются и у других простейших, но в *Jodamoeba bütschlii* вакуоль является постоянной и окрашивается интенсивнее.



## ЖГУТИКОВЫЕ (ИЛИ БИЧЕНОСЦЫ) — FLAGELLATA

Жгутиковые — простейшие, снабженные со взрослым состоянием одним или несколькими жгутиками. Тело их снаружи покрыто тонкой оболочкой, называемой пеликулой. Движение происходит при помощи бичей, или жгутиков, и специальной колеблющейся перепонки (ундулирующая мембрана); питание либо осмотическое, либо посредством специального щелевидного органа, выполняющего функции рта (цитостом). Размножаются путем деления, которое всегда

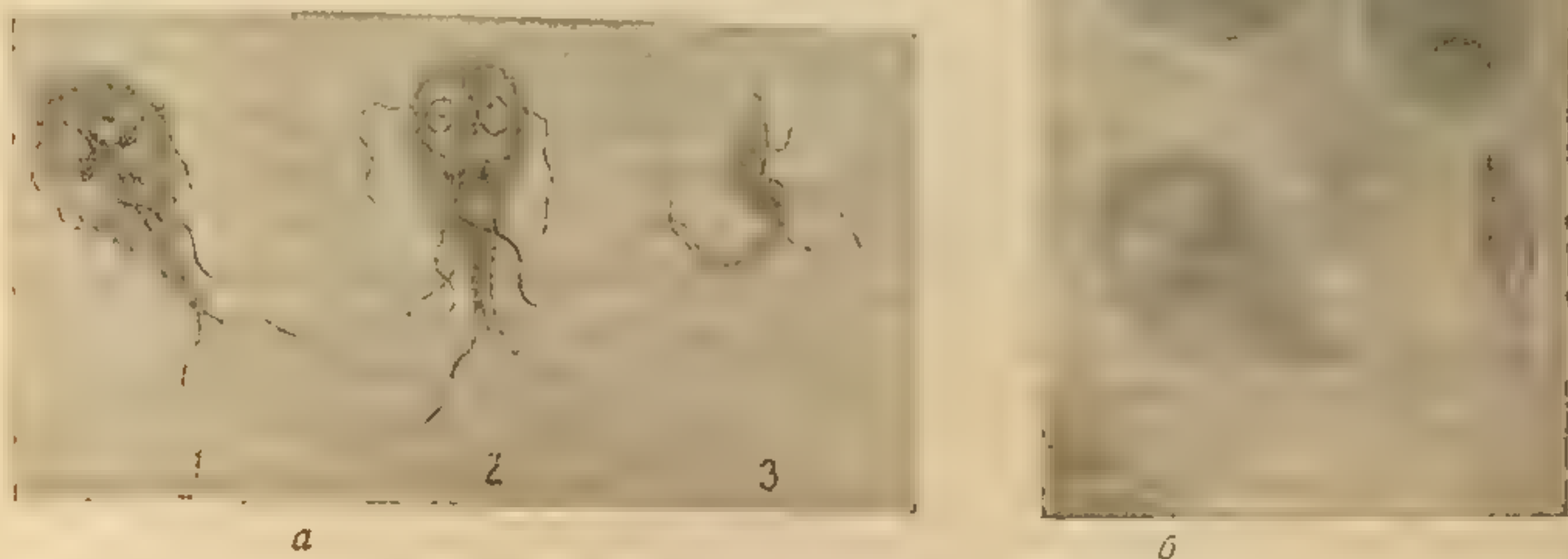


Рис. 249. Лямблия — *Lamblia intestinalis*.

а — вегетативные формы, фиксированные и окрашенные; 1—2 — с брюшной стороны; 3 — сбоку; б — вегетативные формы, нефиксированные. Увеличение в 1250 раз.

происходит в продольном направлении, начиная с переднего конца. Некоторые формы инцистируются.

Наиболее распространенными и изученными являются три вида.

1) *Lamblia intestinalis*, или *Giardia intestinalis* — лямблия (рис. 249, а, б и рис. 250) — очень подвижный паразит, снабженный четырьмя парами жгутиков: три пары отходят от передней части тела, четвертая — от хвостового конца.

Паразит в активной стадии по форме напоминает грушу. Передний конец широк и закруглен, хвостовой — узок, заострен и несколько загнут. На вентральной поверхности в расширенной части паразита имеется чашеобразное вдавление: это перистом, или сосущий диск, при помощи которого паразит присасывается к стенкам кишечника.

На окрашенных препаратах видно, что паразит имеет симметричное билатеральное строение; все детали его тела парные. Близ переднего конца лежат два небольших овальных пузырчатых ядра, окруженных тонкой, но резко выраженной оболочкой; в центре каждого ядра — кариозома. Между ядрами проходят два параллельно лежащих аксостилия, или аксонемы, идущие до заднего конца тела. В связи с крайней подвижностью паразита эти детали видны только на окрашенных препаратах.

Цисты встречаются в кале значительно чаще, чем вегетативные формы. Они очень характерны, имеют овальную форму, отчетливую дву-



Рис. 250. Лямблия — *Lamblia intestinalis*. Цисты: 1 — нефиксированный препарат, окрашенный иодом; видны 4 ядра и некоторые детали строения; 2 и 3 — фиксированные и окрашенные. Увеличение в 1250 раз.



контурную оболочку и содержат 2 или 4 круглых ядра, лежащих ближе к одному из полюсов. Иногда в ядрах имеется по одной кариозоме, и ядра, благодаря этому, похожи на глазки. Как и в вегетативных формах, в цистах все части тела парные. По своему расположению они представляют очень характерную картину. Длина цист 10—14  $\mu$ , ширина 7,5—9  $\mu$ .

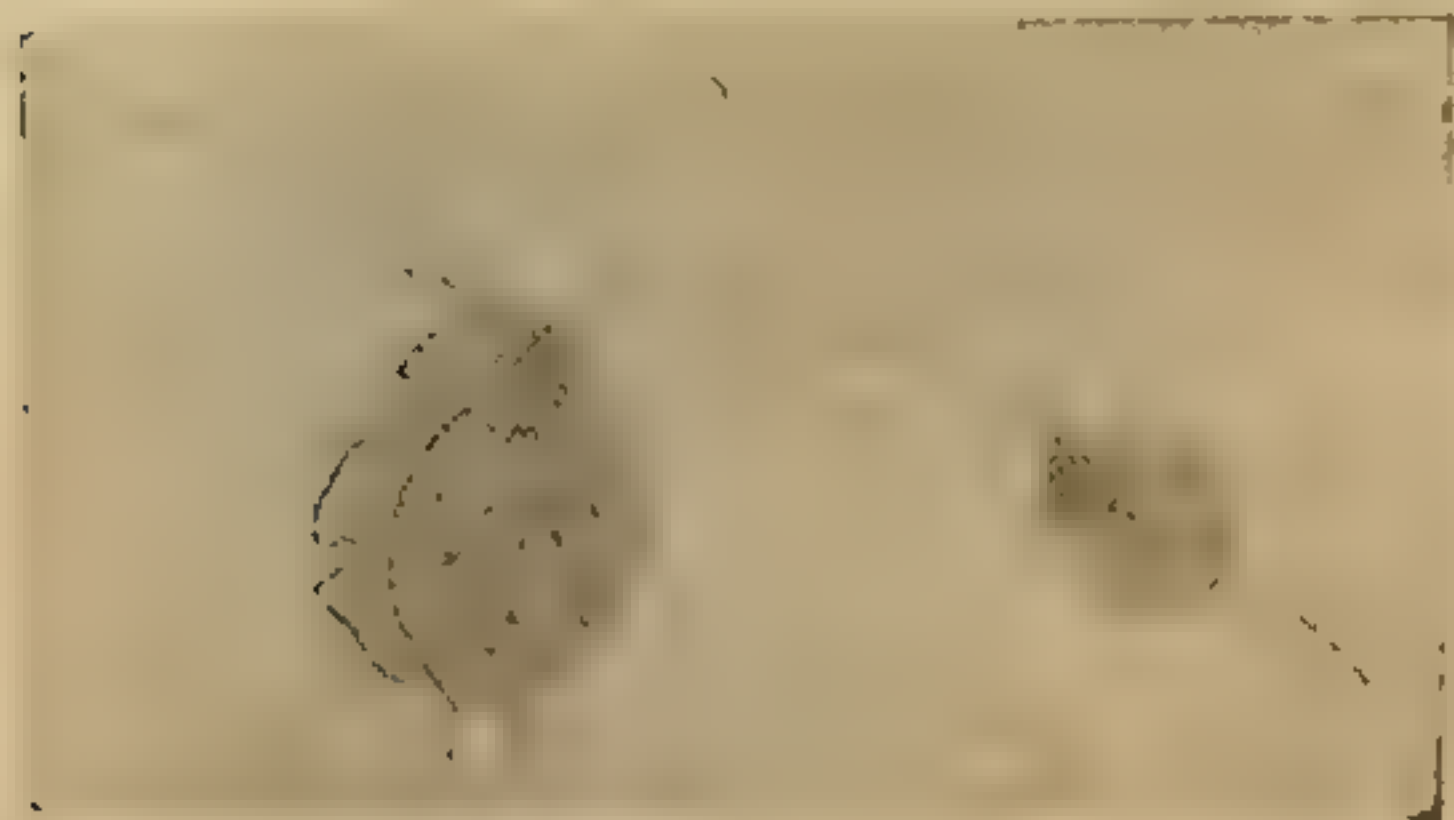


Рис. 251. Трихомонас — *Trichomonas intestinalis*. Вегетативные формы, фиксированные и окрашенные. Увеличение в 1250 раз.

Кишечные лямблии живут на всем протяжении тонких кишок, иногда и в толстых кишках, паразитируя на поверхности эпителиальных клеток. В нижнем отделе кишечника они инцистируются. Со времени широкого применения дуоденального зонда этот паразит привлек особое внимание, так как в ряде случаев был найден в дуоденальном содержимом и пузырной желчи. Патогенное значение его многими авторами оспаривается.

## 2) *Trichomonas intestinalis*, s. *Trichomonas hominis*, — три-

хомонас (рис. 251). У человека паразитирует два вида: *Trichomonas vaginalis* во влагалище и *Trichomonas intestinalis* в толстых кишках; его находили также в желчных путях, в полости рта и, наконец, в легких, что дало повод некоторым исследователям выделить третий вид — *Trichomonas pulmonalis*. Оба вида трихомонад известны только в активной стадии. Большинство авторов полагает, что эти паразиты стадии цисты не проходят.

*Trichomonas intestinalis* встречается значительно реже, чем *Lamblia*. Форма его также грушевидная, но вследствие энергичных движений она постоянно меняется, так что могут встречаться паразиты круглой, веретенообразной и даже неправильной формы. От лямблии он отличается: 1) меньшей величиной, 2) тем, что передняя часть его тела более утолщена, а задний заостренный конец значительно короче, 3) наличием ундулирующей мембраны, которая начинается у переднего полюса и, огибая тело паразита сбоку, доходит до заднего конца, где оканчивается коротким свободным жгутом. У живых особей она находится в непрерывном, очень активном движении. От переднего полюса, кроме того, отходят 3—4—5 очень нежных тонких жгутиков одинаковой длины, тоже оживленно двигающихся. На окрашенных препаратах видно ядро, лежащее недалеко от переднего полюса тела, маленькая ротовая щель — цитостом и многочисленные пищеварительные вакуоли, наполненные заглоченным материалом: бактериями, пищевыми частицами, а иногда и эритроцитами.

*Trichomonas intestinalis* размножается продольным делением. Паразит живет в толстых кишках; его находили при ряде упорных кишечных заболеваний, но роль его как возбудителя не всеми признается.

3) *Chilomastix mesnili* — хиломастикс (рис. 252) в активной стадии похож на *Trichomonas intestinalis*, но тело его асимметрично, более

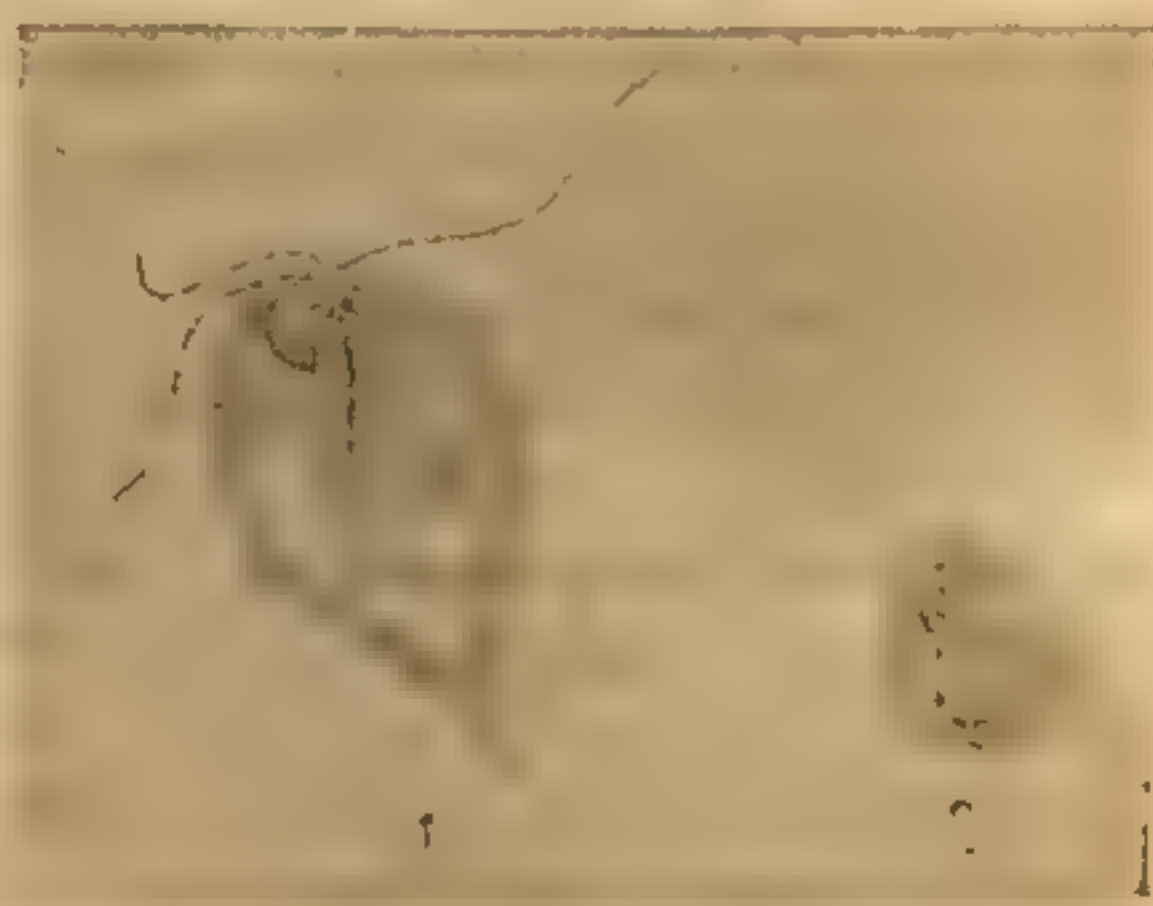


Рис. 252. Хиломастикс — *Chilomastix mesnili*. Вегетативная форма нефиксированная (1) и циста (2) фиксированная и окрашенная. Увеличение в 1250 раз.



вытянуто. От переднего полюса отходят 4 жгутика; из них 3 направлены вперед, а четвертый направлен назад и лежит по краю ротового отверстия. Движениями этого жгутика, вероятно, пищевые частицы направляются в рот. Ротовая щель лежит вдоль по длине тела и занимает почти половину его длины. Ядро лежит у переднего конца. Аксостиль и ундулирующая мембрана отсутствуют. Детали структуры видны только на окрашенных препаратах.

Цисты паразита имеют также грушевидную форму; длина их 7,5—10  $\mu$ , оболочка тонкая, бесцветная, содержимое гомогенное; в живой цисте ядро не видно. Хиломастикс живет в толстых кишках, не патогенен, нередко встречается одновременно с другими простейшими. Распространен повсеместно. Обнаруживается в жидком стуле при поносах как в подвижной, так и в инцистированной форме. В оформленном кале находят только цисты. Паразит встречается реже двух предыдущих.

### СПОРОВИКИ — SPOROZOA

Особенностью споровиков является то, что все представители этого класса — паразиты. В главе о крови было упомянуто, что к классу споровиков принадлежит плазмодий малярии, имеющий громадное значение в патологии человека. Принадлежащие к этому классу кокцидии, паразитирующие в кишечнике у человека, встречаются редко, и патогенное значение их спорно; значительно большую роль они играют в патологии животных, среди которых широко распространены.

Кокцидии прodelывают те же стадии развития, что и плазмодии малярии; но в отличие от плазмодиев малярии они не нуждаются в промежуточном хозяине и паразитируют в эпителиальных клетках. Аналогично тому как спорозоит малярии внедряется в эритроцит, спорозоит кокцидии внедряется в эпителиальную клетку; в ней он растет, превращается в зрелого шизонта, затем распадается на серповидные мерозонты.

Мерозонты выходят из эпителиальной клетки, попадают в полость органа и внедряются в другие эпителиальные клетки. Цикл шизогонии повторяется много раз. Затем шизогония затихает, и мерозонты в эпителиальных клетках дифференцируются в женские и мужские половые особи — макро- и микрогаметы. Микрогаметы выходят из клетки и активно проникают в макрогаметы. Продукт слияния — зигота — выпадает в просвет кишечника, превращается в ооцисту и выбрасывается вместе с калом, в котором и может быть обнаружена. Затем в ооцисте происходит деление протоплазмы и ядра, причем образуются споробласты, превращающиеся в спороцисты. В дальнейшем в спороцистах образуются спорозонты.

Если цисты попадают в пищеварительный канал восприимчивого животного, то оболочка цист растворяется, спорозонты освобождаются, внедряются в эпителиальные клетки и в дальнейшем повторяют описанный цикл.

У человека описаны кокцидии из рода *Eimeria* и из рода *Isospora*.  
1) *Eimeria clupearum* и *Eimeria sardinae* s. *oxyspora* паразитируют у сельдей, салаки и макрели; в испражнениях человека они были обнаружены в виде шарообразных цист диаметром 20—30  $\mu$ , одетых в двуслойную оболочку (рис. 253).

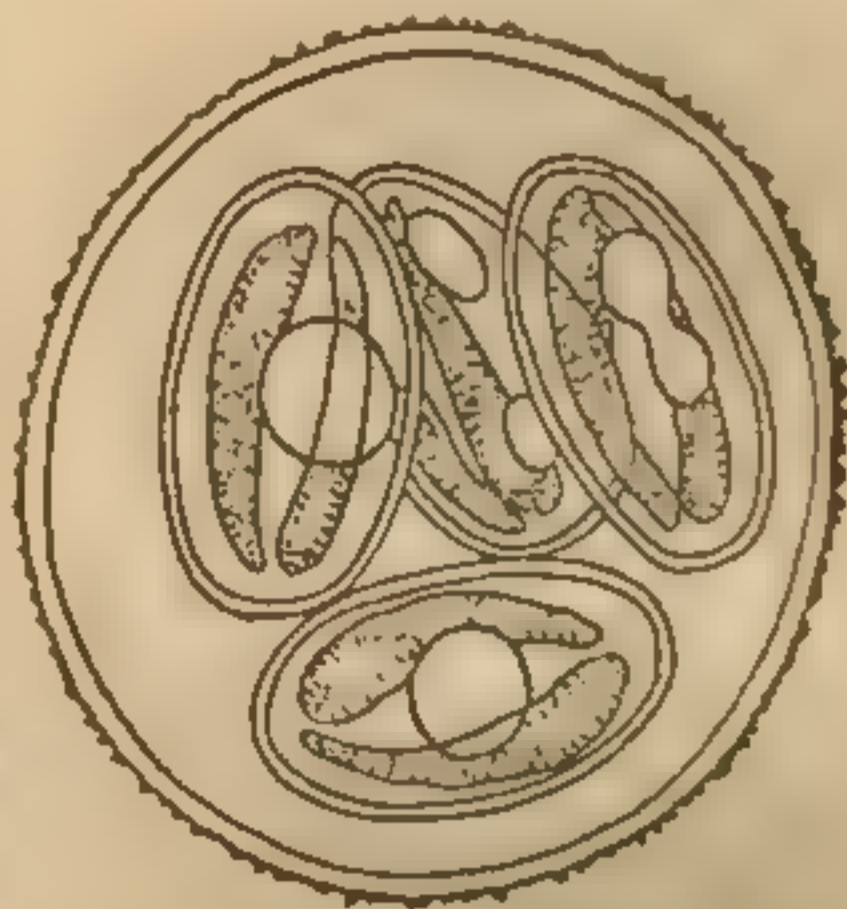


Рис. 253. Зрелая циста — *Eimeria clupearum*.



В ооцисте *Eimeria aculeatum* 4 овальных споры; в каждой споре 2 червеобразных спорозонта; в ооцисте *Eimeria sardinae* 2 тонкие длинные споры, слегка перекрученные своими концами. Нахождение этих ооцист, по видимому, представляет ложный (транзитный) паразитизм.

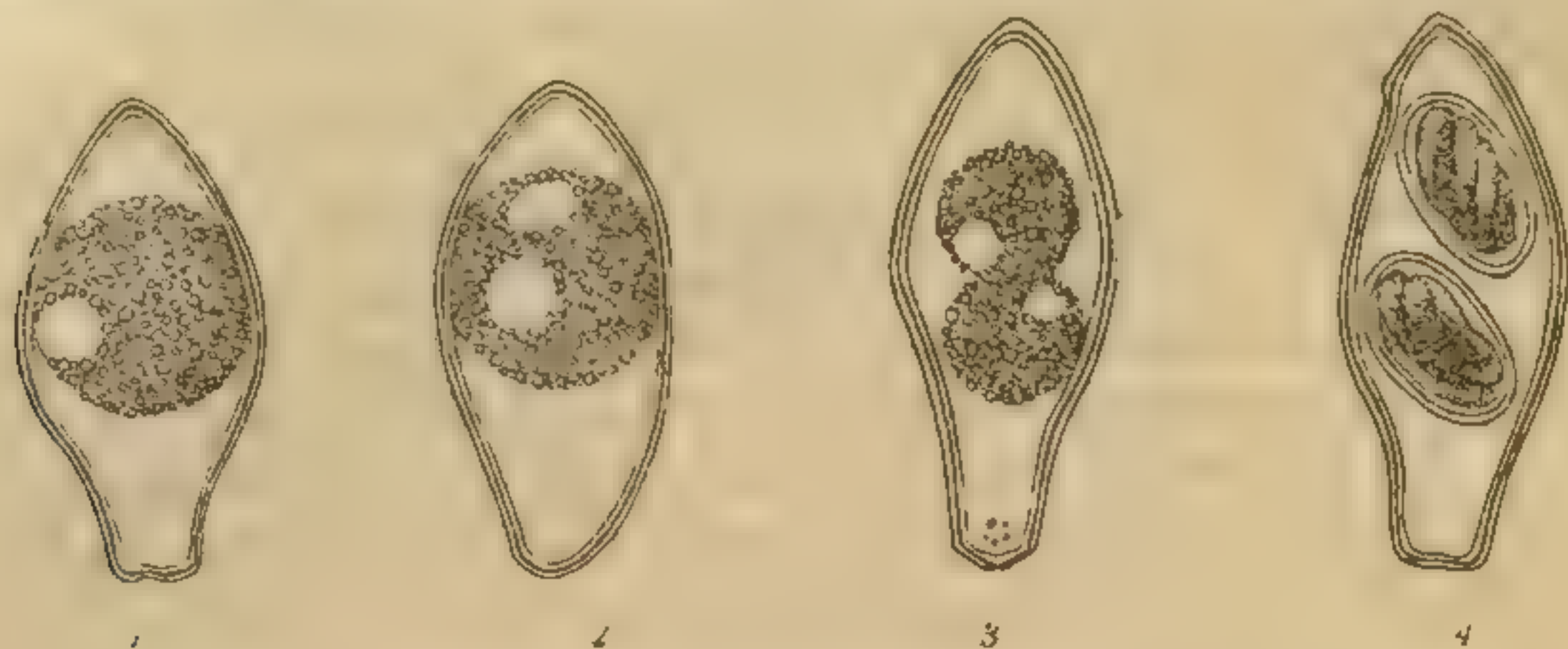


Рис. 254. *Isospora hominis*. Ооцисты в различных стадиях развития.

1 — ооциста с несегментированной протоплазмой; 2 — ооциста с двумя ядрами; 3 — образование двух споробластов; 4 — зрелая циста с двумя споробластами; в каждом споробласте 4 спорозонта.

2) *Isospora hominis* (рис. 254). Ооцисты выделяются с испражнениями в совершенно зрелом состоянии; они содержат 2 споры размером  $16 \times 10,5 \mu$ , в каждой видны 4 спорозонта. Источник заражения, по видимому, собаки и кошки.

Заражение человека происходит при заглатывании зрелых ооцист. Случаи заражения человека редки. Они были обнаружены в Ташкенте, Закавказье; единичные случаи наблюдались и в Москве. Патогенное действие проявляется кишечными расстройствами. Обычно наблюдается самопроизвольное излечение.

3) *Isospora belli* Wenyon. Ооцисты, находящиеся в фекалиях, представляют удлиненно-овальные тела  $25-33 \times 3,5-15 \mu$  с неразделившимся содержимым в виде шаровидной зернистой массы; через 2—3 дня в спороцисте развиваются 2 споры, а в каждой — по 4 спорозонта.



Рис. 255. Балантидий — *Balantidium coli*.

1 — вегетативная форма; 2 — циста.

Наблюдались в районе восточной части Средиземного моря (Греция, Египет). Прямых доказательств патогенности нет.

## РЕСНИЧНЫЕ, ИЛИ ИНФУЗОРИИ

*Balantidium coli* — балантидий (рис. 255). Единственной патогенной инфузорией, паразитирующей в кишечнике человека, является балантидий. Балантидий — самый крупный из простейших, встречающихся в кишечнике человека. Средний размер его  $50-70 \mu$  в длину и  $40-70 \mu$  в ширину; от этой средней величины могут встречаться большие укло-



нения в ту и другую сторону: встречаются особи маленькие (в 25  $\mu$ ) и очень большие (до 200  $\mu$ ). Тело паразита имеет яйцевидную форму, снабжено оболочкой (пеликулой), которая по всей своей поверхности усажена ресничками. У паразита имеется ротовое отверстие (цитостом), переходящее в короткий, слепой оканчивающийся пищевод и анальное отверстие (цитопиг). Внутри протоплазмы лежит ряд пищеварительных и одна или две сократительные вакуоли. Там же два ядра: одно большое, макронуклеус, другое маленькое, микронуклеус. Балантидий питается различными пищевыми остатками из каловых масс, может заглатывать также эритроциты и лейкоциты.

Балантидий размножается простым делением, в результате которого всегда образуются лишь две особи. После ряда бесполой популяции наблюдается конъюгация двух особей, которые после слияния инцистируются. Вне хозяина подвижные балантидии могут жить лишь несколько часов. Заражение происходит при заглатывании цист.

Балантидии живут в толстых кишках, чаще всего в слепой кишке. Они могут жить, не оказывая патогенного влияния на ткани кишечника, но могут также вызывать очень тяжелые поражения, глубокие язвы гангренозного характера. Клинически заражение проявляется либо простыми поносами, либо протекает по типу дизентерии. Инфузорная дизентерия — болезнь очень тяжелая, она дает до 29% смертности.

Балантидий встречается очень часто в кишечнике различных животных, особенно часто у домашней свиньи, для которой он совершенно непатогенен; распространен повсеместно.

Человек, повидимому, заражается от свиньи, так как в ряде случаев балантидиоза удавалось установить связь заболевания с тесным контактом со свиньями. Впрочем, некоторые авторы отрицают тождество балантидия человека и свиньи.

**Blastocystis hominis** — **бластоцистис** (рис. 256) представляет собой образование, место которого в ряду паразитов кишечника до сих пор не выяснено: иные причисляют его к простейшим, другие — к бластомицетам. Встречается в кале нередко, поэтому необходимо уметь распознавать его. Он представляет образование довольно правильной круглой формы, величиной 5—30  $\mu$  в диаметре. Для него характерно содержание большого центрального тела (вакуоли), совершенно круглого, гомогенного и не воспринимающего окраски иодом. Часто внутри его видны несколько сильно преломляющие свет включения, напоминающие ядра. Центральная масса преломляющая свет, как оболочкой. При окраске эозином вакуоль окружена протоплазмой, как оболочкой. При окраске эозином сначала окрашивается только протоплазма. Малые экземпляры могут дать повод к смешению с цистами *Endolimax nana*, но последние отличаются тем, что гликогеновая вакуоль в них окрашивается иодом, тогда как центральная вакуоль *Blastocystis hominis* иодом не окрашивается, так как гликогена не содержит. Патогенное значение этого образования не выяснено; нередко оно встречается одновременно с амебами.

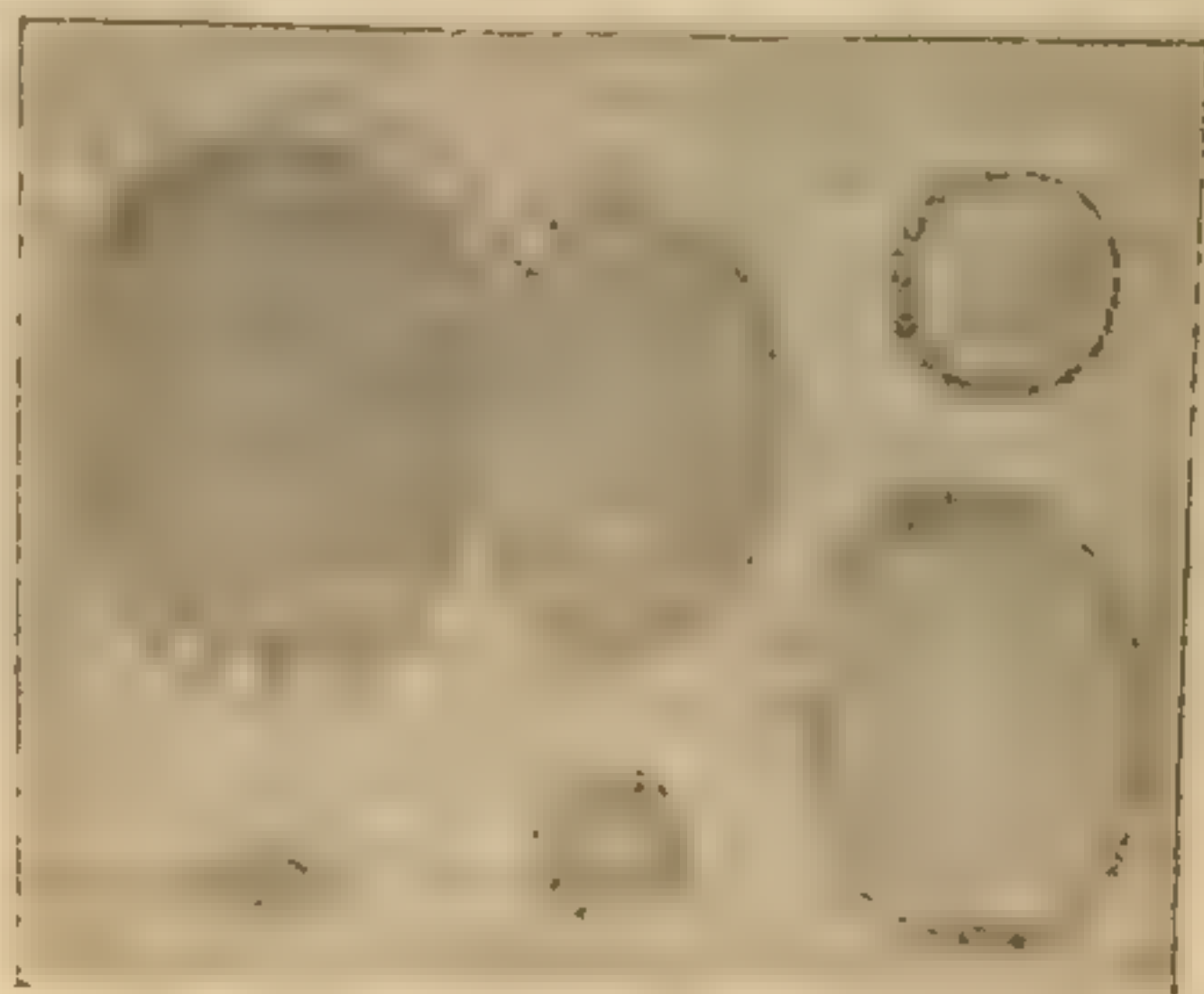


Рис. 256. Бластоцистис — *Blastocystis hominis*.



## ПАЗАРИТИЧЕСКИЕ ЧЕРВИ — ГЛИСТЫ (ГЕЛЬМИНТЫ)

Глистные инвазии широко распространены по всему земному шару. Ввиду несомненного патогенного влияния глистов (гельминтов) на организм человека и животных, борьба с ними представляет задачу большой важности. Систематическое обследование различных групп населения с целью изучения распространения гельминтов и широко развернутая борьба с ними стали применяться лишь при советской власти. За этот короткий период советские исследователи внесли много нового в изучение жизненного цикла гельминтов, их патогенного значения и т. д. Выдающуюся роль в этих исследованиях сыграли работы Скрыбина и его школы.

В настоящее время установлено, что человек является хозяином для 175 видов паразитических червей. Нередки случаи, когда у одного индивида (человека, животного) одновременно встречается несколько видов паразитов. Описаны случаи заражения человека 6 видами, заражения птиц 17 видами и заражения лошади 47 видами (Скрыбин). Число экземпляров отдельного вида паразитических червей, живущих в организме человека, может быть очень велико. Число мелких паразитов, каковы *Hymenolepis nana*, *Enterobius vermicularis*, трихинелла, может достигать до нескольких тысяч и даже сотен тысяч; число больших ленточных червей — до нескольких десятков.

Вредное влияние паразитов на организм человека сводится к двум моментам: 1) выделению токсических веществ и 2) механическому воздействию. Ярким примером первого момента может служить широкий лентец, токсическое действие которого известно уже давно. Что касается других паразитических червей, то наиболее подробному изучению в последние 20—30 лет подвергся токсин, находящийся в жидкости кожно-мышечного мешка аскарид, способный вызывать серьезные расстройства — одышку, понос, обильное потоотделение и т. д.

Второй момент — механическое воздействие — сводится частью к повреждению слизистой оболочки кишечника или других тканей, вследствие прикрепления глистов при помощи присосок и крючьев, частью к проникновению их в какой-либо орган или скоплению в полости органа в таком количестве, которое может вызвать закупорку его просвета. Далее следует упомянуть о миграции личинок, которые тоже способны вызывать механическое нарушение целостности тканей хозяина, и, наконец, о том, что некоторые виды глистов могут являться причиной образования конкрементов — мочевого, желчных и каловых.

В общем нужно сказать, что паразитические черви, поселяясь в человеческом организме, не щадят ни единого органа; их болезнетворное влияние не ограничивается действием на желудочно-кишечный тракт, а может нарушать функции всех органов.

Большинство паразитических червей локализуется в кишечнике, и с каловыми массами выделяются яйца, личинки и зрелые паразиты. Отсюда ясно, насколько важно гельминтологическое исследование кала.

Гельминтологическое исследование подразделяется на макро- и микрогельминтологическое.



## МАКРОГЕЛЬМИНТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Макрогельминтологическое исследование необходимо производить всегда, так как могут быть случаи, когда яйца глистов найти не удастся, а при макроскопическом исследовании обнаруживаются глисты или части их.

Размеры некоторых паразитов настолько велики, что они могут быть замечены при простом осмотре: таковы аскариды, обрывки и отдельные членики ленточных глистов. Однако немало и таких глистов, которые так малы, что либо легко могут быть просмотрены (например, острицы), либо вообще не могут быть обнаружены без специальной обработки кала.

1) **Отыскивание мелких глистов.** Применяемый метод обработки сводится к следующему. Для исследования берется все доставленное количество каловых масс и размешивается в десятикратном количестве воды — 1—3 л, в зависимости от количества кала. Воду наливают отдельными порциями, размешивая в ней кал, для того чтобы получить равномерное размельчение. Размешанный кал сливают в высокую стеклянную банку или цилиндр, прибавляют продажного формалина около 10 см<sup>3</sup> на 1 л и дают каловым массам отстояться в течение нескольких часов или до следующего дня, после чего осторожно сливают верхний слой воды. На осадок вновь наливают воды.

Процедуру эту повторяют несколько раз, пока верхний слой не будет прозрачен. После этого производят либо просеивание отстоявшейся массы через мелкое сито и просмотр этого отсева, либо весь осадок отдельными порциями просматривают в тонком слое при медленном покачивании. С этой целью лучше всего пользоваться плоскими стеклянными сосудами — фотографическими кюветками или обычно имеющимися в лаборатории чашками Петри — и рассматривать материал на белом и черном фоне. Пользование чашками Петри имеет то удобство, что в них материал можно рассматривать при помощи штативной лупы (увеличение в 6, 10 и 20 раз) и со слабыми системами микроскопа. Пользование лупой или микроскопом необходимо для нахождения таких мелких форм, как трихинелла, стронгилоиды, трихостронгилиды. Для вылавливания мелких форм пользуются препаровальными иглами, маленькими кисточками или глазными пипетками.

2) **Отыскивание головки ленточных глистов** производят таким же способом, только все промывные воды сливают через сито, чтобы не потерять головку, которая могла оторваться. В заключение отмытый глист выкладывают в плоский сосуд и ищут головку в самом тонком отрезке. Она представляет незначительное утолщение в виде булавочной головки. Найдя головку, подвергают ее микроскопированию. Весь отстой на дне банки также просматривают в тонком слое.

3) **Исследование члеников.** Зрелые членики (проглоттиды) цестод (см. ниже), набитые яйцами, периодически отрываются от тела паразита и выбрасываются с фекалиями, в которых они нередко встречаются. Членики невооруженного зрения обладают активными движениями и выходят из ануса независимо от дефекации.

Чтобы рассмотреть структуру членика, особенно разветвления матки, членик плотно зажимают между двумя предметными стеклами и рассматривают его на свет простым глазом или при помощи лупы. За неимением лупы можно использовать окуляр от микроскопа, приставив последний плотно к предметному стеклу стороной, обращенной при работе с микроскопом к глазу, и рассматривать глазом через противоположную сторону окуляра.



## МИКРОГЕЛЬМИНТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Такое исследование производится: 1) на нативных препаратах, т. е. на препаратах кала без предварительной его обработки, 2) на препаратах, полученных после специальной обработки.

1) **Нативные препараты** готовят следующим образом. Вся порция кала тщательно размешивается в посуде, в которой она доставлена, деревянным шпателем для получения равномерной массы. Из этой массы готовят 3—4 препарата, для чего тонкой деревянной лучинкой берут маленькую частицу, вносят ее в 3—4 капельки воды, помещенные на предметное стекло, и размешивают в них, затем покрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом. Если приходится смотреть препараты без покровных стекол, то лучше размешивать частицы кала в капле глицерина: это дает возможность распределить материал более ровным тонким слоем и предохраняет от высыхания.

Описанный способ прост, пригоден для всех видов паразитических червей, но позволяет просмотреть лишь очень малое количество материала. При небольшом количестве их и соответственно малом содержании яиц в кале последние, конечно, будут далеко не в каждом препарате; поэтому и были предложены специальные методы, имеющие целью увеличить концентрацию яиц.

2) **Способы концентрации яиц глистов.** а) **Способ Телемана.** Реактивы: 1) эфир; 2) соляная кислота. Крепкую соляную кислоту разводят четырех-пятикратным количеством дистиллированной воды. В пробирку наливают 1—1,5 см<sup>3</sup> эфира и трех-четыrehкратный объем разведенной соляной кислоты; затем вносят лучинкой частицу кала величиной с мелкий орех, энергично взбалтывают содержимое пробирки и быстро процеживают через маленькое волосяное или металлическое сито в фарфоровую ступку, чашечку или химический стаканчик с носиком. За неимением сита можно процеживать через слой марли, положенной в воронку; но при этом марлю нужно в конце отжать стеклянной палочкой, так как яйца на ней могут застрять. Полученный фильтрат тотчас сливают в центрифужку и центрифугируют 1 минуту. В пробирке образуется три слоя: верхний — растворенные жиры, средний — соляная кислота с растворенными в ней веществами (казеин, муцин, соли и т. д.) и нижний — нерастворимые части кала. В последнем и содержатся яйца гельминтов, если они имеются. Два верхних слоя сливают полностью, для чего пробирку опрокидывают; продолжая держать ее наклонно книзу, забирают осадок со дна пробирки пипеткой. Осадок легче забрать, если в пипетку предварительно набрать капельку воды. Из осадка готовят 1—2 препарата. Нередко при опрокидывании пробирки содержимое не выливается; в таких случаях тонкой лучинкой обводят верхний слой, отделяя его от стенок пробирки, к которым он пристал. Металлические сита необходимо тотчас же после употребления подвергать продолжительному промыванию струей водопроводной воды.

Недостатком способа Телемана является то, что яйца некоторых паразитических червей деформируются.

Многолетние наблюдения, проведенные Альперович, Царицыной и другими, показали, что способ Телемана дает значительно больший процент положительных результатов, чем описываемый ниже способ Фюллеборна. К тому же он пригоден не только для обнаружения яиц глистов, но и для нахождения цист простейших; этот способ даже дает возможность дифференцировать цисты.

б) **Способ Фюллеборна.** При способе Телемана кал смешивают с жидкостями сравнительно легкого удельного веса, благодаря чему яйца



как более тяжелые образования быстро осаждаются. Описываемые ниже методы представляют обратное — смешение кала с жидкостями тяжелого удельного веса, в которых яйца как более легкие частицы всплывают на поверхность.

При способе Фюллеборна реактивом служит насыщенный раствор поваренной соли: отвешивают 350 г поваренной соли и растворяют в 1 л воды, налитом в большую колбу; раствор нагревают до кипения, дают ему остыть и фильтруют через обыкновенный бумажный фильтр, вату или марлю; он может стоять годами.

Небольшую часть кала тщательно размешивают лучинкой в солевом растворе. Размешивание производят в маленьком стаканчике или узкой баночке, причем солевой раствор приливают постепенно. Солевого раствора в общем берут раз в 20 больше, чем кала. Жидкие или полужидкие испражнения предварительно растирают с сухой солью. Полученная эмульсия должна быть довольно густо окрашена. После размешивания обычно тотчас всплывают на поверхность крупные частицы кала. Их снимают или, если поверхность сильно загрязнена, профильтровывают эмульсию через слой марли в другой стакан или широкую пробирку и оставляют сосуд в покое на  $1\frac{1}{2}$ —1— $1\frac{1}{2}$  часа — оптимальный срок, через который яйца всплывают на поверхность, после чего они могут вновь погрузиться на дно. Для исследования проволочной петлей снимают с поверхности несколько капель жидкости, прикладывая к ней петлю плашмя: пленку, остающуюся на петле, стряхивают на предметное стекло. Петлю после каждого употребления прожигают.

Последующими наблюдениями была установлена желательность просмотра также и осадка со дна сосуда, лучше всего в глицерине.

Препарат, по указанию Фюллеборна, рассматривают без покровного стекла; однако гораздо отчетливее и чище получаются препараты с покровными стеклами; к тому же они предпочтительны с гигиенической точки зрения.

Преимущество способа Фюллеборна состоит в том, что он значительно проще и дешевле способа Телемана. Кроме того, он не деформирует яйца и дает более чистое поле зрения. Недостаток способа тот, что он дает меньший процент находок, чем способ Телемана и Горкиной. Последнее особенно относится к яйцам власоглава.

в) Способ Горкиной. Берут пробы фекалий из разных мест общей массы, всего около чайной ложки, и помещают в фарфоровую чашечку. Постепенно прибавляют водопроводную воду в количестве 6—10 см<sup>3</sup> (в зависимости от консистенции кала). Массу размешивают стеклянной палочкой до полужидкой консистенции, выливают в обыкновенную пробирку через маленькое металлическое сито, положенное в воронку; к фильтрату приливают 1 см<sup>3</sup> крепкой соляной кислоты и 1—2 см<sup>3</sup> эфира. Пробирку закрывают корковой пробкой и оставляют на 10—15 минут; время от времени жидкость перемешивают опрокидыванием пробирки. Затем центрифугируют 1—2 минуты и сливают жидкость быстрым опрокидыванием пробирки. К осадку прибавляют 8—10 см<sup>3</sup> насыщенного раствора поваренной соли, смешанного поровну с глицерином (раствор перед употреблением необходимо взбалтывать). Тщательно размешивают стеклянной палочкой, снова центрифугируют 2—3 минуты (при 2000—3000 оборотов) и проволочной петлей, изогнутой под прямым углом, снимают по возможности весь верхний слой, распределяя материал на 1—2 препарата.

Горкиной удавалось видеть 200—300 яиц в поле зрения в случаях, где, по Фюллеборну, она находила единичные яйца.



По неопубликованным наблюдениям Гусевой, число яиц, находимых по способу Горкиной, значительно превосходит также число яиц, обнаруживаемых по способу Телемана, и в отдельных случаях способ Горкиной дает положительный результат там, где по способу Телемана результат получается отрицательный. Однако способ Горкиной более трудоемок.

г) Способ Калантарян<sup>1</sup>. 5—10 г испражнений размешивают в 10-кратном количестве насыщенного раствора азотнокислого натрия (натронной селитры) и полученную эмульсию процеживают через редкую марлю в мазевую баночку. Через 10 минут готовят 6 препаратов, снимая петли диаметром 8—10 мм пленку с поверхности жидкости. По наблюдениям Белозеровой и Литуновской, метод дает больший процент положительных результатов по сравнению как с методом нативных препаратов, так и с методом Фюллеборна при исследовании поверхностной пленки и просмотром осадка на дне сосуда и даже при одновременном проведении этих двух способов. К тому же он менее трудоемок.

3) **Способ соскоба.** Так как острица откладывает яйца не в кишечнике, а на коже, окружающей анальное отверстие, то для обнаружения ее яиц издавна пользуются методом соскоба. Наблюдения самого последнего времени показали, что этот метод с успехом может быть применен и при других глистных инвазиях. Так, Подъяпольская рекомендует его для обнаружения яиц *Taenia solium*, Кеворкова<sup>2</sup> при его применении находила яйца аскариды, власоглава и др. Соскоб делают плоской оструганной деревянной лучинкой (или спичкой), смоченной в глицерине, разведенном пополам с водой. Из материала, приставшего к лучинке, готовят препарат, соскабливая его краем чистого покровного стекла в каплю водопроводной воды или глицерина.

Если материал берегут вне стен лаборатории, то удобнее пользоваться следующей методикой. Соскоб сделать деревянным шпателем (спичкой), смоченным в 1% растворе едкого натра; перенести материал тут же в каплю того же раствора на предметное стекло и, дав капле и шпателю высохнуть, завернуть то и другое в бумагу. Непосредственно перед исследованием на высохшую каплю наносят каплю 1% раствора едкого натра и в нее соскабливают материал со шпателя. Соскоб рациональнее всего производить ранним утром или через 2—3 часа после того, как больной лег спать. Кроме перианального соскоба, производят также исследование ректальной слизи и подногтевых пространств. В последнем случае для размягчения грязи нужно смочить весь край ногтя 0,5—1% раствором едкого кали или натра. Далее весь ногтевой корень, все ногтевое ложе и края ногтя очищаются с помощью пинцета. маленькими ватными комочками, смоченными в 1% щелочи. Собранный материал и ватные комочки кладут в центрифужку с 1% раствором щелочи, взбалтывают, центрифугируют и исследуют осадок под микроскопом.

В амбулаторной практике нередко приходится сталкиваться с нежелаемым обследуемых лиц подвергаться такому исследованию. Ввиду этого Кеворкова (1946) предлагает заменить его следующим способом. В пробирку с ватным тампоном, употребляемым для исследования слизи из зева, наливают 3—5 см<sup>3</sup> кипяченой воды. Обследуемый утром, перед тем как встать с постели, немного отжимает ватный тампон о внутреннюю стенку пробирки, протирает им окружность ануса и снова вкладывает тампон в пробирку. В лаборатории тампон тщательно взбалтывается в воде

<sup>1</sup> Калантарян Е. В., Медицинская паразитология, 1938.

<sup>2</sup> Кеворкова В. И., Медицинская паразитология, № 3, стр. 73, 1946.



пробирки, затем вода выливается в центрифужную пробирку, центрифугируется 2—3 минуты, и из осадка готовят препараты.

4) **Способ концентрации личинок.** Частица кала смешивается поровну с животным углем, разводится водой до полужидкой консистенции, помещается на середину кружка фильтровальной бумаги, положенного в чашку Петри, после чего последняя закрывается. Личинки, особенно филарио-видные, мигрируют в прозрачную конденсационную воду на нижней поверхности крышки чашки Петри и могут быть там обнаружены при микроскопическом исследовании.

## МОРФОЛОГИЯ, ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ И ПАТОГЕННОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПАРАЗИТИЧЕСКИХ ЧЕРВЕЙ

В кишечнике человека паразитируют плоские черви, принадлежащие, по зоологической номенклатуре, к подтипу плоских червей, и круглые, принадлежащие к подтипу круглых червей. Для плоских червей характерно то, что тело их сплющено в передне-заднем направлении. Большинство из них паразиты, хотя есть и свободно живущие. Паразитические представители плоских червей делятся на ленточных глистов и сосальщиков.

1) **Ленточные черви—цестоды.** а) **Морфология.** Ленточные черви, как видно из самого названия, имеют вид ленты. Длина разных видов этих глистов колеблется в чрезвычайно широких пределах — от 0,5 мм до 10 и даже 20 м.

Для этих глистов характерны две фазы развития: 1) финны, или цистицерки, живущие в тканях паренхиматозных органов; 2) зрелые черви, живущие в кишечнике человека.

Животное, в котором паразитируют зрелые черви, называется окончательным, или дефинитивным, хозяином; животное, в котором паразитируют финны, — промежуточным хозяином. По отношению к большинству гельминтов человек является окончательным хозяином.

Зрелые паразиты состоят из головки (сколекса), служащей органом прикрепления, шейки, являющейся зоной роста, и члеников (проглоттид), которые все вместе образуют так называемую стробилу; членики имеют различную величину и форму, смотря по расстоянию от головки. Число члеников колеблется так же резко, как и длина паразита. Существуют паразиты, тело которых состоит из 3—4 члеников; у других число члеников доходит до нескольких тысяч. Сколекс снабжен присасывательным аппаратом в виде полукруглых присосок, овальных присасывательных ямок или удлиненных придатков, носящих название ботридий; присоски вооружены еще хитиновыми крючочками, которые располагаются на специальном хоботке (rostellum). При помощи присосок и крючьев паразит прикрепляется к стенкам кишечника.

Тело членика состоит из наружного покрова (кутикулы), мышечного слоя и паренхимы, в которой заложены половые органы. Каждый членик включает в себе самостоятельную систему органов, причем эти органы развиваются в нем с известной последовательностью: молодые членики большей частью бесполо; по мере развития в них появляются сначала мужские половые органы, потом женские, наряду с которыми некоторое время продолжают существовать и мужские, так что членики становятся гермафродитными. Далее, мужские половые железы атрофируются, женские же, особенно матка, пышно развиваются. Наконец, во вполне зрелых члениках атрофируются и женские половые железы — яичники; ос-



тается только набитая яйцами матка, которая заполняет почти все тело членика. Матка является наиболее дифференцированным органом зрелых члеников; ее специфическая форма дает возможность распознавать отдельные виды.

Помимо половых органов, членики содержат еще экскреторную систему, состоящую из особых клеток и заканчивающуюся 4 выводными протоками, и нервную систему, описание которой мы опускаем, так как она без специальной обработки не видна. Пищеварительная система у ленточных глистов совершенно отсутствует; они питаются осмотически, всасывая пищу поверхностью тела.

Оплодотворение может происходить тремя различными способами: 1) может иметь место самооплодотворение члеников — при внедрении мужского копулятивного органа (cirrus) в лежащую рядом с ним вагину; 2) может происходить перекрестное оплодотворение члеников, если копулятивный мужской орган одного членика внедряется в вагину другого членика того же паразита; 3) наконец, если в кишечнике имеются два паразита одного вида, то копулятивный орган (cirrus) членика одной особи может внедряться в вагину членика другой. Оплодотворенные яйца проникают в матку и здесь скопляются обычно в громадном количестве. У некоторых видов они через особое отверстие матки выходят в кишечник хозяина; у большинства же такого отверстия не имеется, и они остаются в матке. У таких видов вполне созревшие членики периодически отторгаются от стробилы и выводятся наружу вместе с фекалиями. Во внешней среде они загнивают, распадаются и яйца, заключенные в них, освобождаются.

б) Жизненный цикл. У большинства цестод имеется смена окончательного хозяина одним промежуточным хозяином; меньшее число видов развивается с промежуточным и дополнительным хозяевами; значительно реже наблюдается цикл с одним хозяином. У цестод, развивающихся с одним промежуточным хозяином, жизненный цикл сводится к следующему. Паразит, живущий в окончательном хозяине, размножается половым путем, и половые продукты его — яйца — выбрасываются вместе с испражнениями хозяина наружу. Они попадают в кишечник промежуточного хозяина с водой или кормом. Там скорлупа их растворяется, онкосфера (зародыш) освобождается, проникает через стенку желудка или кишок в лимфатические или кровеносные сосуды и разносится в различные части тела. Осев в ткани, она превращается в личиночную стадию, носящую название „финны“. Финны являются тканевыми паразитами и не имеют выхода из тела промежуточного хозяина. Дальнейшее их развитие возможно, если они вместе с тканями, в которых они заложены, будут съедены окончательным хозяином. Оставаясь в организме промежуточного хозяина, они могут погибнуть при жизни хозяина или же в случае его естественной смерти погибнуть вместе с ним. Заражение окончательного хозяина происходит при поедании промежуточного хозяина, инвазированного финнами. Таким образом, человек заражается при поедании плохо проваренного или прожаренного мяса или рыбы, содержащих финны. Таков цикл развития червей, принадлежащих к отряду так называемых цепней.

У более низших ленточных червей, лентецов в тесном смысле, представителем которых является *Diphyllbothrium latum*, цикл развития еще сложнее, так как у них имеет место двойная смена хозяев, в связи с чем финнозная стадия имеет две различные формы. Яйцо такого лентеца, попав в воду, раскрывается и превращается в реснитчатую личинку-корацидию, свободно плавающую в воде. Корацидия проглатывается

Рис. 257. Личинка — *Diphyllbothrium latum*. Зрелая (проглотит)

с — выгнана  
с — гетали

Человек  
которые в  
эхинококк  
стадии сп  
и вооруж  
в финноз  
ст. черв  
бла  
червями  
госдают  
3) употр  
2) (с  
часто вс  
Taeniarh  
таях вст  
cls gran



мелкими рачками — циклопами (промежуточный хозяин), теряет реснитчатый покров и превращается в тело удлинённой формы, носящее название процеркоида. Дальнейшее развитие происходит в организме пресноводных рыб (щука, налим и т. д. — дополнительный хозяин), которые питаются упомянутыми рачками. В кишечнике рыбы рачки перевариваются, процеркоиды освобождаются, расселяются по различным органам и тканям рыбы и превращаются во вторую форму финнозной стадии — плейроцеркоид. Плейроцеркоид представляет собой сколекс, снабженный присосками и небольшой стробилой. Попадая в кишечник человека с непроваренной рыбой, он быстро начинает превращаться в зрелую форму.

Промежуточным хозяином для *Taenia solium* служит свинья, для *Taeniarhynchus saginatus*, рогатый скот; *Diphyllobothrium latum*, как сказано выше, имеет промежуточного и дополнительного хозяина.

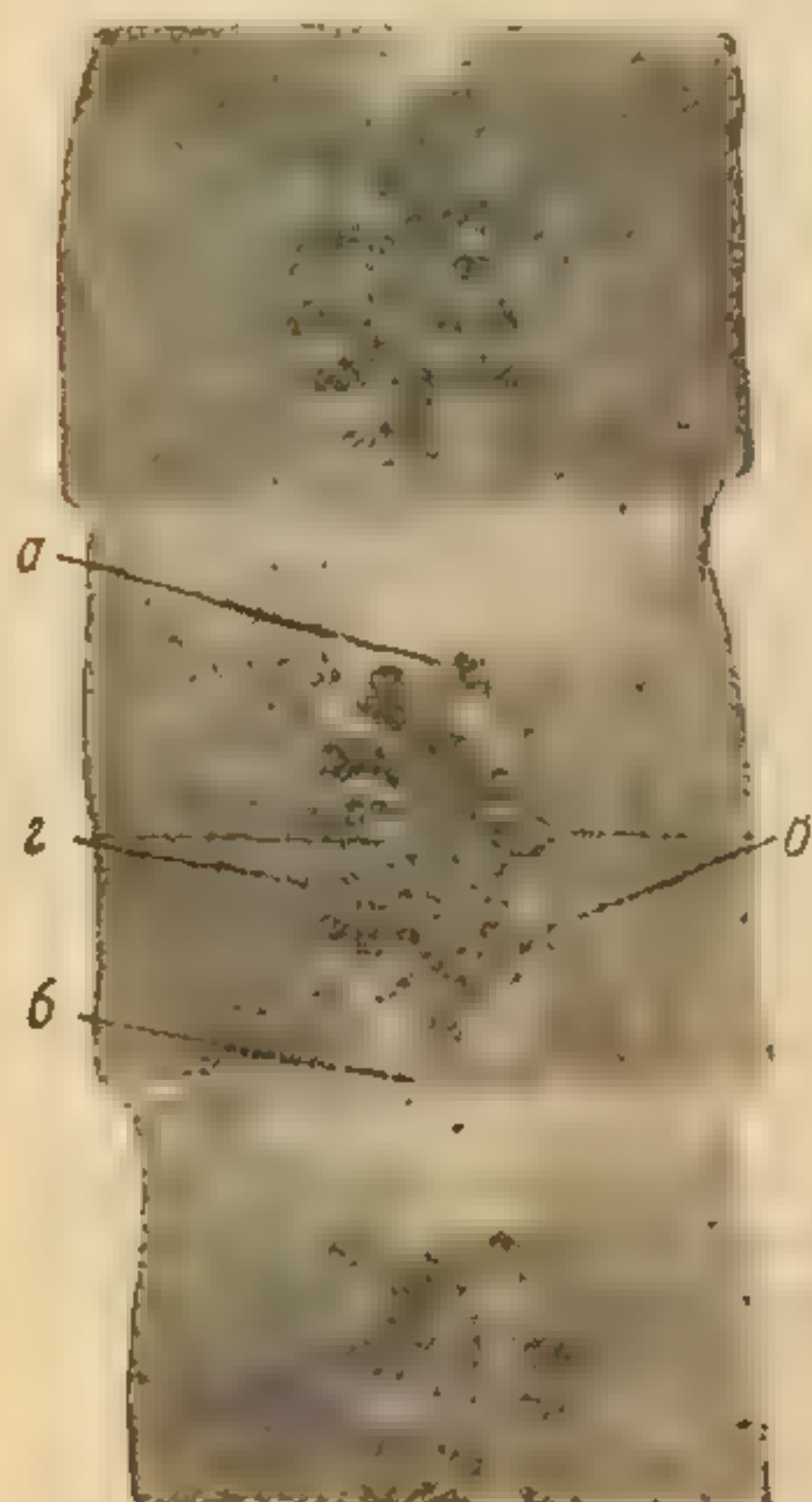


Рис. 257. Лентец широкий — *Diphyllobothrium latum*. Зрелые членики (проглоттиды). Увеличение в 6 раз.

a — bursa cirri; б — яичники;  
1 — петли матки; 2 — петли vas deferens.



Рис. 258. Лентец широкий — *Diphyllobothrium latum*. Головка (сколекс) (по Скрыбину и Шульцу).



Рис. 259. Лентец широкий — *Diphyllobothrium latum*. Яйцо (по Скрыбину и Шульцу).

Человек, как правило, является окончательным хозяином гельминтов, которые в нем паразитируют. Исключение из этого правила представляют эхинококк, который у человека паразитирует не в зрелой, а в финнозной стадии своего развития, причем эта стадия имеет очень сложную форму, и вооруженный цепень, который иногда также паразитирует у человека в финнозной стадии, вызывая заболевание, известное под названием цистицеркоза. Цистицеркоз может локализоваться в мозгу, глазу и т. д.

Благоприятными условиями для заражения человека ленточными червями служат: 1) свалки испражнений на открытых местах, где их поедают животные и заражаются, 2) недостаточный контроль мяса и 3) употребление мяса в сыром виде.

2) Отдельные представители. Из ленточных глистов у нас наиболее часто встречаются лентец широкий — *Diphyllobothrium latum*, *Taenia solium*, *Taeniarhynchus saginatus* и *Hymenolepis nana*. Кроме того, в редких случаях встречаются: *Hymenolepis diminuta*, *Dipylidium caninum*, *Echinococcus granulosus*.



а) *Diphyllbothrium latum*, s. *Bothriocephalus latus*, — лентец широкий (рис. 257, 258 и 259)<sup>1</sup>. Паразит длиной 2—9 м (в редких случаях — 20 м); имеет булабовидную уплощенную головку длиной 1—5 мм с двумя шелеобразными глубокими присосками по бокам, без крючьев; к ней примыкает тонкая шейка и далее 3000—4000 члеников. Ширина последних больше длины, и только зрелые иногда бывают квадратные. Половое отверстие находится посредине поверхности членика. Парный яичник имеет вид крыльев бабочки. Матка извилистая в центре

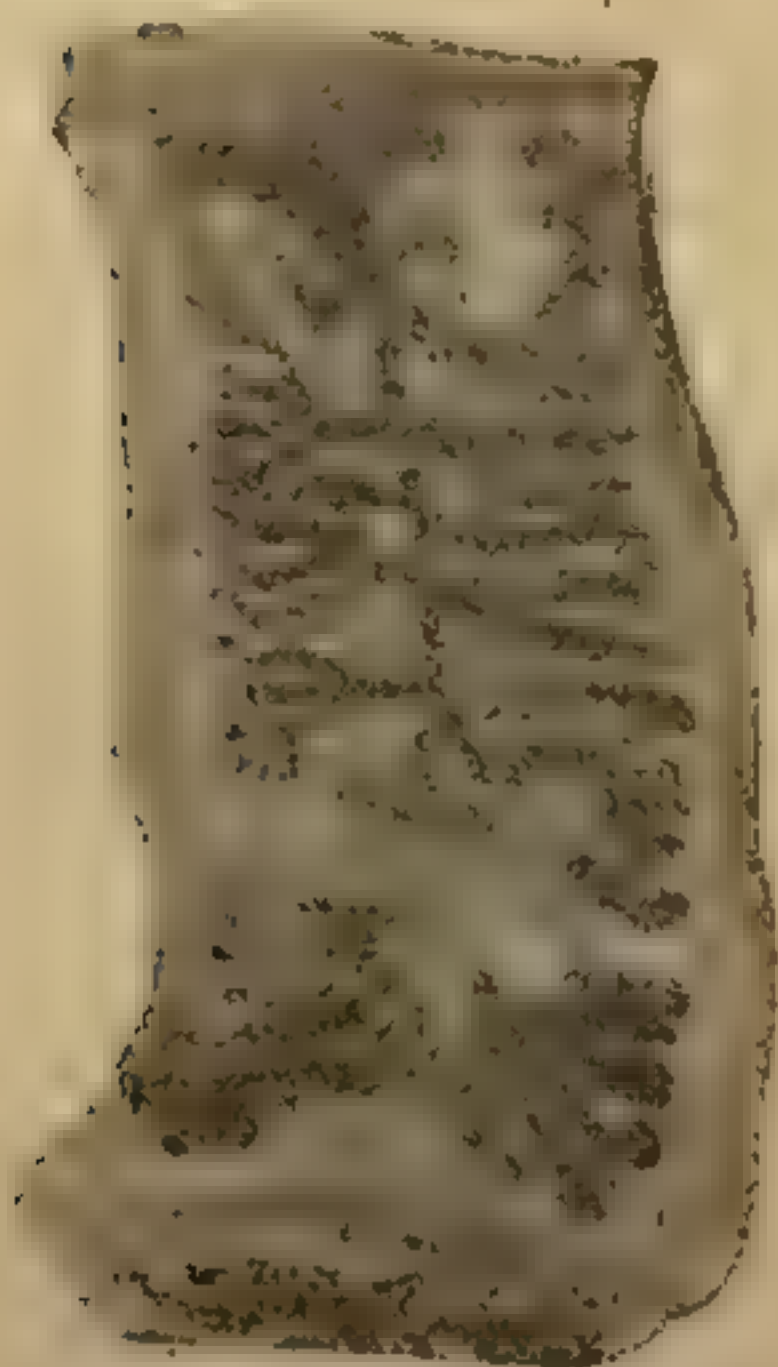


Рис. 260. Цепень вооруженный — *Taenia solium*. Зрелый членик (проглотида). Увеличение в 6 раз.



Рис. 261. Цепень вооруженный — *Taenia solium*. Головка (сколекс) с двойной кроной крючьев. Увеличение в 25 раз.

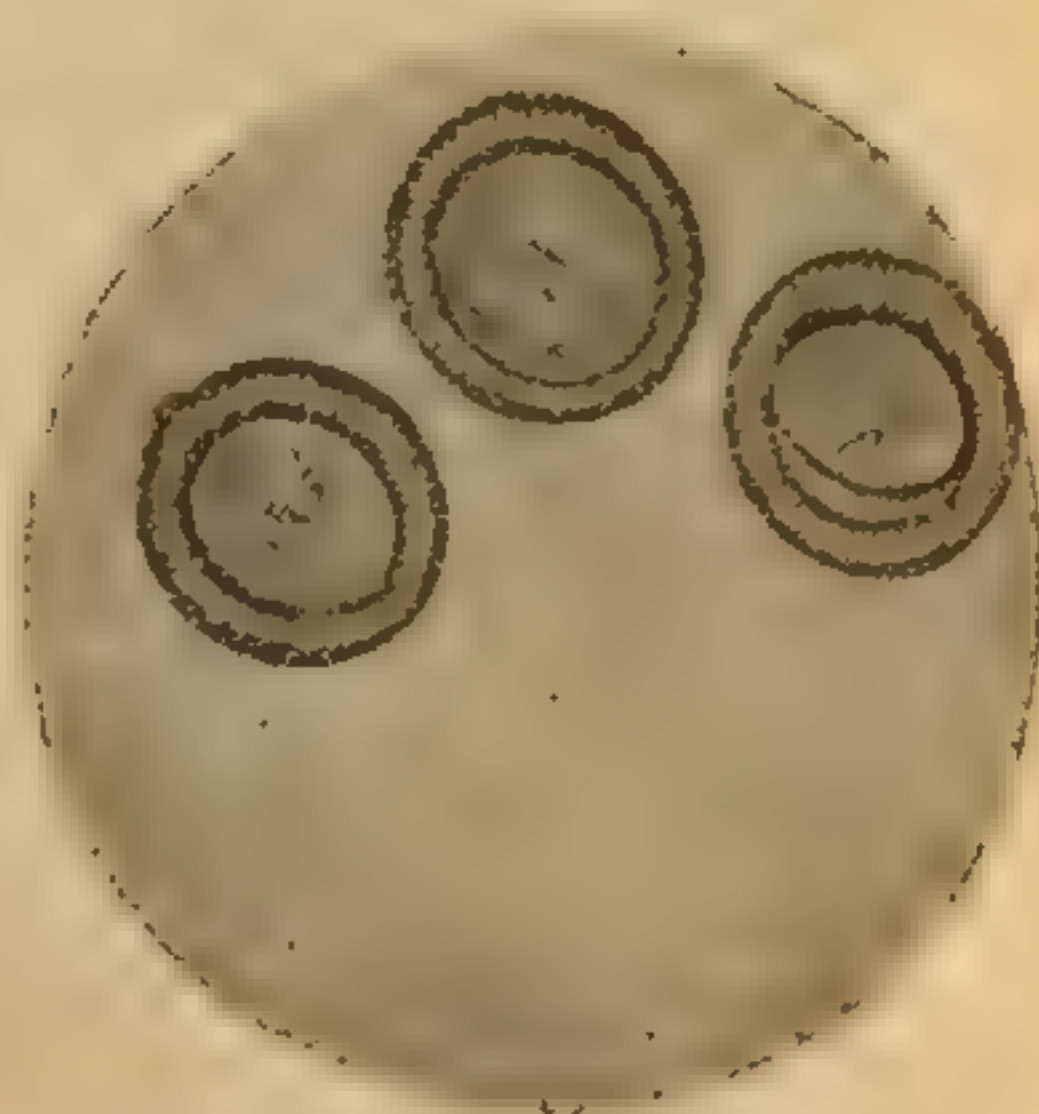


Рис. 262. Цепень вооруженный — *Taenia solium*. Онкосферы. Увеличение в 550 раз.

зрелых члеников в виде темного пятна, вследствие скопления темнорых яиц. Яйца овальные, длиной 70 м, шириной 45 м, имеют двуконтурную оболочку, на переднем конце которой находится крышечка, а на противоположном — маленький бугорок. Содержимое яйца — светлые протоплазматические шары почти одинаковой величины. Яйца содержатся в испражнениях в большом количестве, благодаря чему легко обнаруживаются.

Жизненный цикл с промежуточным и дополнительным хозяевами: промежуточный хозяин — рачок-циклоп, дополнительный — рыба, чаще всего щука и налим, далее, ерш, сиг, форель и некоторые другие пресноводные рыбы. Заражение происходит при употреблении в пищу зараженной рыбы. Соответственно этому заражение широким лентецом наиболее распространено среди населения в районах больших рек. Так, в Архангельске инвазия этим паразитом составляет половину всех глистных инвазий. Значительно распространена она и в Ленинграде.

Широкий лентец приобрел особенное клиническое значение, так как он бывает иногда причиной злокачественного малокровия. Малокровие развивается вследствие всасывания токсинов, выделяемых паразитом. Картина крови при этом ничем не отличается от картины крови при бирмеровской анемии. Диагноз ставится по нахождению яиц паразитов в кале. Необходимо иметь в виду, что в 1928 г. у человека в СССР найдена трематода, яйца которой ничем не отличаются от яиц широкого лентеца (см. «Трематоды», стр. 595).

<sup>1</sup> Рисунки главы VIII взяты из атласа Подъяпольской В. П. и Капустина В. Ф., 1937 г.



б) *Taenia solium* — цепень вооруженный (рис. 260, 261 и 262) имеет длину 1,5—3 м, в исключительных случаях до 8 м. Головка в виде черного зернышка с 4 присосками и конусообразным хоботком, снабженным 26—30 крючьями двух размеров — крупных и мелких, расположенных в 2 ряда. Шейка тонкая, длиной 1 см. Начальные членики короткие, на расстоянии 1 м от головки квадратные, а далее вниз — продолговатые. Половое отверстие находится сбоку, позади середины членика; матка имеет 7—12 боковых разветвлений; разветвления очень толсты и древовидны; в зрелых члениках матка заполнена яйцами. Старые, задние членики отрываются кусками по 5—6 штук; активным движением они не обладают.

Яйца овальной формы с очень нежной оболочкой, которая быстро разрушается. Внутри яйца плавает онкосфера (зародыш) круглой формы диаметром 31—38  $\mu$ , окруженная своей собственной толстой радиально исчерченной оболочкой. Эту онкосферу мы и обнаруживаем в испражнениях, неправильно называя ее яйцом. В испражнениях ее радиально исчерченная оболочка коричневого цвета; внутри видны крючья зародыша. Яйца могут содержаться не только в кале, но и в перианальном соскобе. Паразит живет только в тонких кишках человека, обычно в одном экземпляре; но в отдельных случаях находили до 20 экземпляров.

Человек является единственным окончательным хозяином этого паразита. Промежуточным хозяином вооруженного цепня является главным образом свинья, но может быть также человек, собака, кошка и дикий кабан. Паразит встречается чаще всего в местности, где население питается преимущественно свининой. Свиньи при своей неразборчивости в пище пожирают остатки человеческих экскрементов и тем самым легко заражаются. В организме свиньи личинка сформировывается через 2½—4 месяца, образуя цистицерки.

*Taenia solium* в центральной полосе редко встречается у человека, несмотря на сравнительно широкое распространение его у свиней. Последнее обстоятельство объясняется по-семестно распространенным ветеринарным надзором на бойнях. Среди скотоводческого населения Закавказья паразит распространен больше.

Паразитирование *Taenia solium* может протекать незаметно, но может вызывать и болезненные явления: расстройство пищеварительных органов, нервной системы, а также анемию, которая в некоторых случаях может достигать тяжелой степени и даже приобретать характер пернициозной. Однако наибольшее значение имеет то, что *Taenia solium* может паразитировать у человека в финнозной стадии, вызывая так называемый цистицеркоз. Цистицеркоз локализуется в самых различных органах — глазу, коже, мозгу. При локализации в корковом слое мозга он вызывает картину эпилепсии, при расположении в мозговых центрах может быть причиной внезапной смерти. Диагноз цистицеркоза мозга и внутренних органов очень труден. Во всех сомнительных случаях необходимо прибегать к рентгеноскопическому исследованию всего больного, с помощью чего и удастся обнаружить обызвествленные цистицерки. Желательно также производить реакцию связывания комплемента по Возной (см. Серологическое исследование крови).

в) *Taenia hyemalis* *saginata*, s. *Taenia saginata*, — цепень невооруженный (рис. 263, 264, 265 и 266). Невооруженный цепень имеет длину 4—10 м. Головка снабжена 4 присосками, окруженными черной каймой; хоботок рудиментарный, крючьев нет; шейка короткая. Зрелые членики имеют форму тыквенных семян (16—20 мм длины и 5—7 мм ширины). Членики от заднего конца стробилы отрываются



поодиночке; они способны к довольно энергичным, активным передвижениям. Половое отверстие сбоку то справа, то слева, но чередование неправильное. Матка имеет много разветвлений (18—30), причем она значительно тоньше и нежнее, чем у *Taenia solium*. Яйца (вернее, онкосферы) овальной формы, 30—40  $\mu$  длины и 20—30  $\mu$  ширины. Они не отличимы от онкосфер *Taenia solium*, и дифференцировать по ним эти два вида невозможно. Если в испражнениях нет члеников, которые встречаются нередко и сравнительно легко дифференцируются, то приходится ограничиться указанием на наличие яиц глистов из семейства Taeniidae.



Рис. 263. Цепень невооруженный — *Taeniarhynchus saginatus*. Зрелый членик (проглоттида). Увеличение в 6 раз.



Рис. 264. Цепень невооруженный — *Taeniarhynchus saginatus*. Головка (сколекс). Увеличение в 35 раз.



Рис. 265. Цепень невооруженный — *Taeniarhynchus saginatus*. Яйцо с сохранившейся оболочкой и филаментами.



Рис. 266. Цепень невооруженный — *Taeniarhynchus saginatus*. Онкосфера в испражнениях человека. Увеличение в 550 раз.

Промежуточный хозяин — крупный рогатый скот. Заражение происходит при потреблении мяса, зараженного финнами.

Заражение невооруженным цепенем встречается значительно чаще, чем заражение свиным солитером, причем по разным районам оно колеблется в очень широких пределах; больше всего оно распространено в Сибири, значительно меньше в Европейской части СССР.

Патогенное значение *Taeniarhynchus saginatus* меньше уже по одному тому, что он в финнозной стадии у человека не паразитирует. Болезненные явления могут наблюдаться те же, что и при *Taenia solium*.

г) *Hymenolepis nana*, s. *Taenia nana*, — цепень карликовый (рис. 267 и 268). В отличие от описанных паразитов карликовый цепень имеет очень маленькие размеры: 10—15 мм длины и 0,7—0,9 мм ширины; реже встречаются экземпляры длиной 30—40 мм. Шарообразная головка снабжена 4 присосками, хоботком и венком из 22—30 крючьев; матка



продолговатая, неразветвленная, содержит большое количество яиц. Яйца значительно большей величины, чем яйца *Taenia solium*,  $40-46 \times 30-48 \mu$ ; они одеты двумя широкими прозрачными бесцветными оболочками, вследствие чего мало бросаются в глаза. Содержимое их настолько прозрачно, что в них под микроскопом ясно видны 6 крючьев зародыша. *Hymenolepis папа* чаще встречается у детей, иногда до 4000—5000 экземпляров у одного человека. Локализация — тонкие кишки. Человек для данного паразита является последовательно и промежуточным, и окончательным хозяином: при неопрятности он сам заражает себя яйцами, которые, попав в кишечник, развиваются сначала в финнозную стадию, а в дальнейшем в половозрелую форму; весь процесс развития паразита протекает в кишечнике. Паразит долгое время считался большой редкостью. За последнее время выяснилось, что он по распространению занимает первое место среди ленточных червей. В большинстве районов инвазия им составляет около 30%.

Патогенность карликового цепenea в ряде случаев бывает резко выражена: наблюдаются нервные расстройства, боли в животе, иногда желудочно-кишечные явления, исхудание и т. д. В крови нередко бывает эозинофилия.

д) *Hymenolepis diminuta*, s. *Taenia flavipunctata*, — цепень крысиный (рис. 269 и 270) очень похож

на *Hymenolepis папа*, но значительно длиннее; он имеет в длину 10—60 см. Головка очень маленькая, с 4 присосками и хоботком без крючьев. Незрелые членики с желтыми пятнышками, зрелые окрашены в бурый цвет. Яйца очень большие, круглые, с двуконтурной коричневой оболочкой; внутри яйца, как и у *Hymenolepis папа*, видны 6 крючьев. Локализация — тонкие кишки. *Hymenolepis diminuta* паразитирует обычно у мышей и крыс, а у человека лишь в редких случаях. Промежуточный хозяин — различные насекомые: мучной червь, крысиные блохи. Патогенное действие для человека изучено очень мало.

е) *Dipylidium caninum*, s. *Taenia cucumerina*, — цепень тыквовидный. Длина паразита 100—350 мм. Головка имеет 4 присоски и хоботок с 3—4 рядами крючьев. Зрелые членики продолговаты, соска и хоботок с 3—4 рядами крючьев. Половые органы и их наружные отверстия расположены попарно в каждом членике. Яйца похожи на яйца *Hymenolepis папа*, но имеют кирпично-красноватый оттенок. Нередко они заключены в коконы, т. е. капсулы, содержащие несколько яиц (8—15—20) (рис. 271).

Как и предыдущий паразит, встречается у человека очень редко (чаще у детей). Обычно он паразитирует у кошек и собак, среди которых очень распространен. Эктопаразиты этих животных — блохи и власоеды собак или кошачьи — являются промежуточными хозяевами и слу-

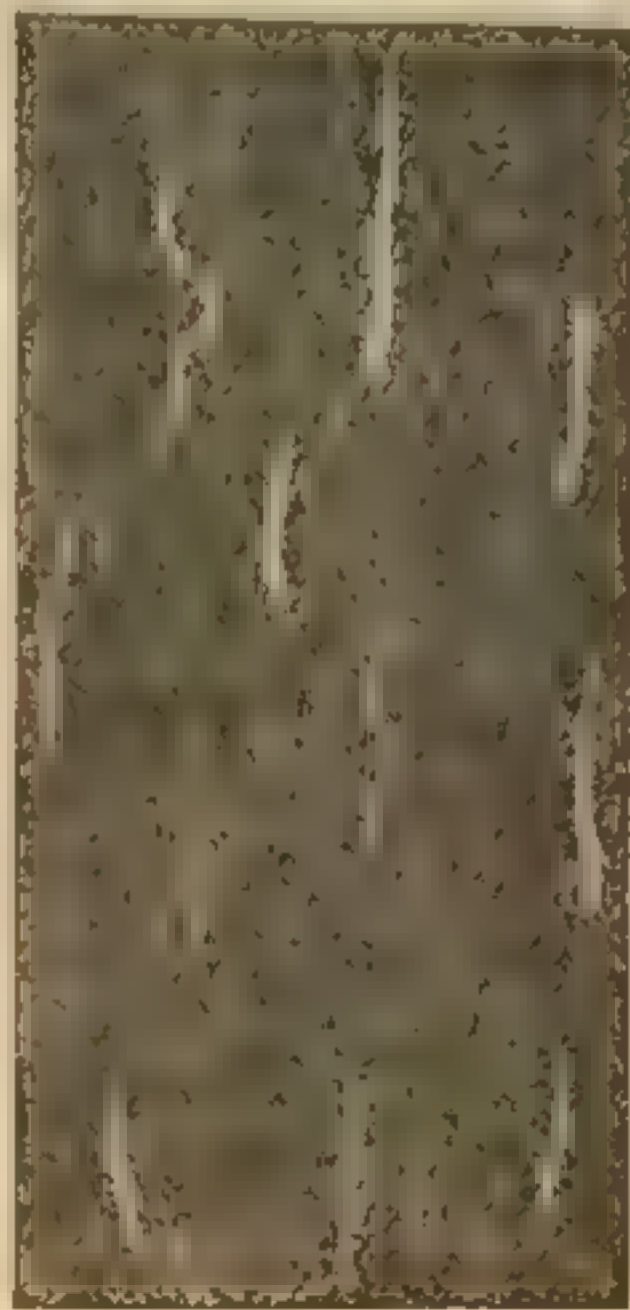


Рис. 267. Цепень карликовый — *Hymenolepis папа*. Паразит. Увеличение в 2 раза.

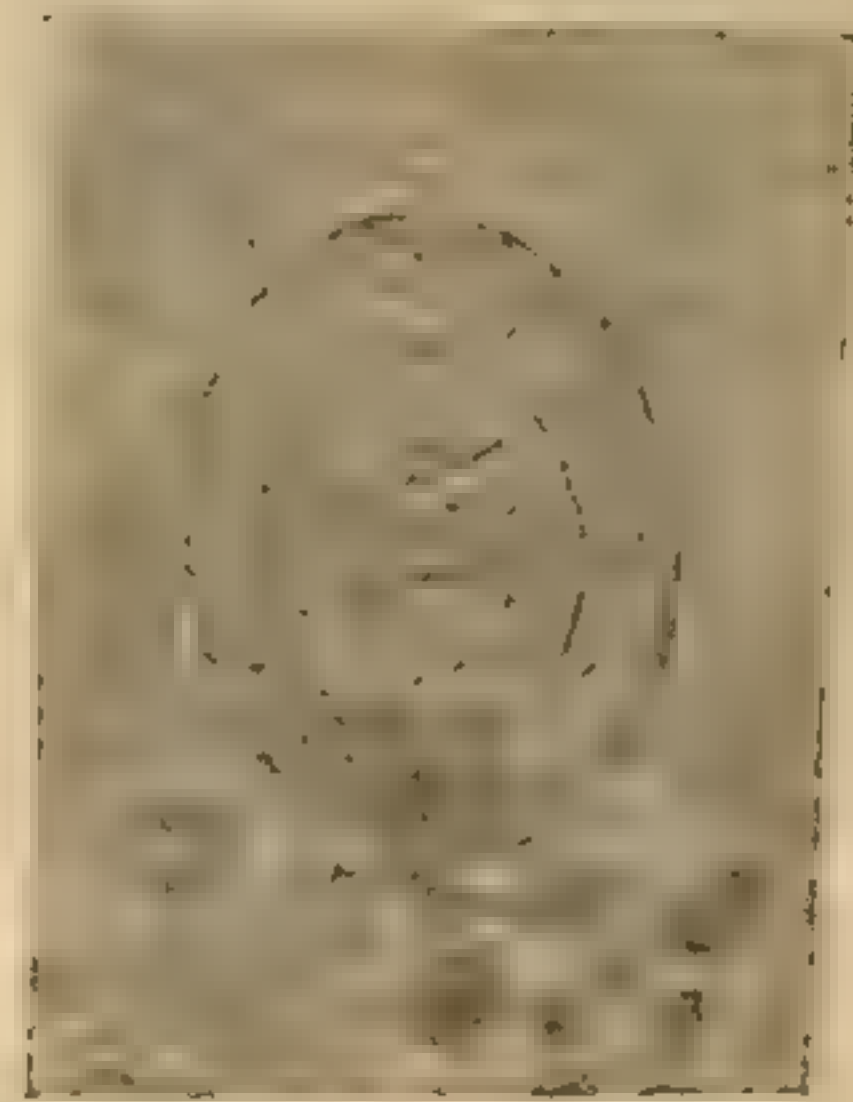


Рис. 268. Цепень карликовый — *Hymenolepis папа*. Яйцо в испражнениях человека. Увеличение в 550 раз.



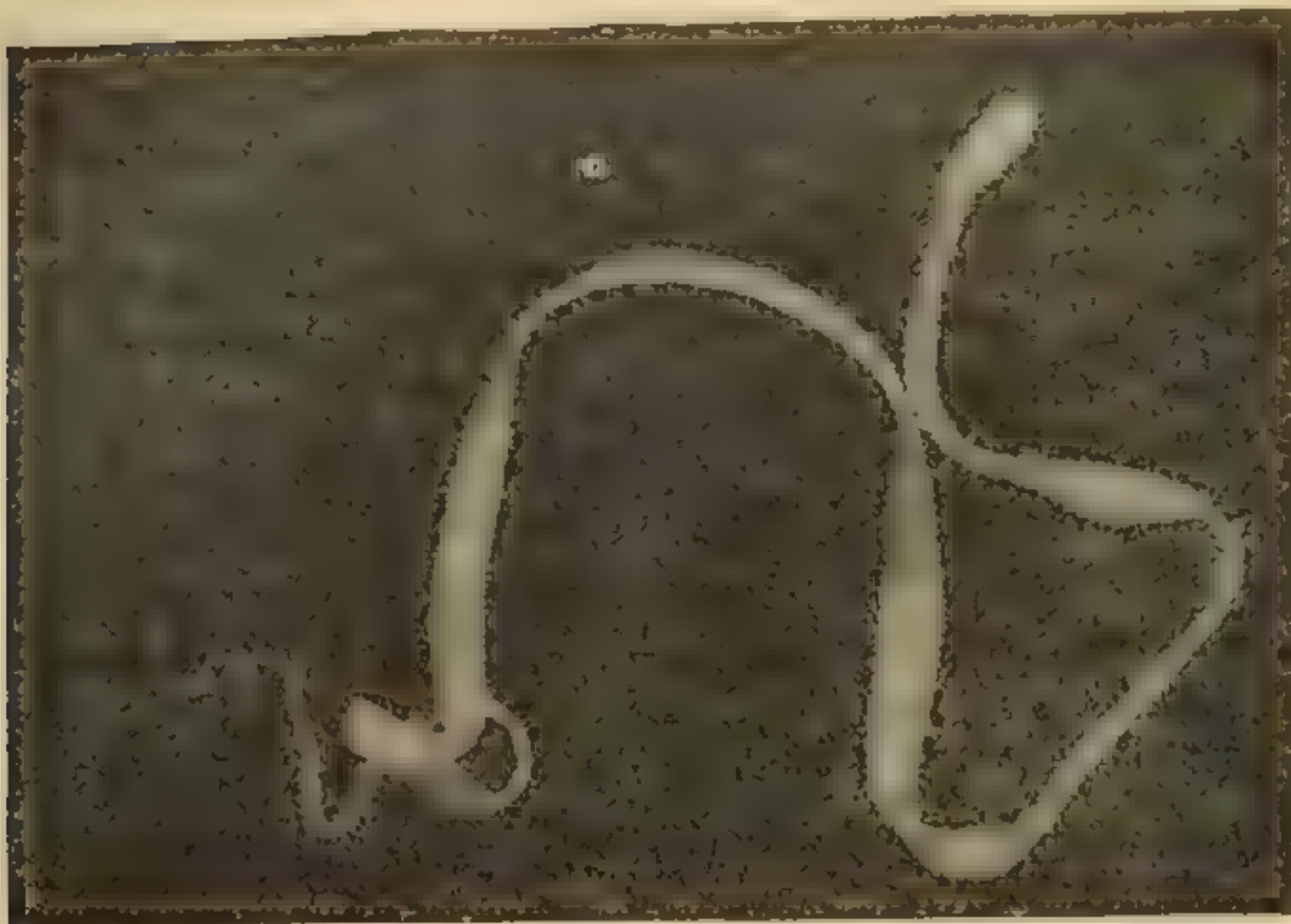


Рис. 269. Цепень крысиный — *Hymenolepis diminuta*. Паразит. Натуральная величина.

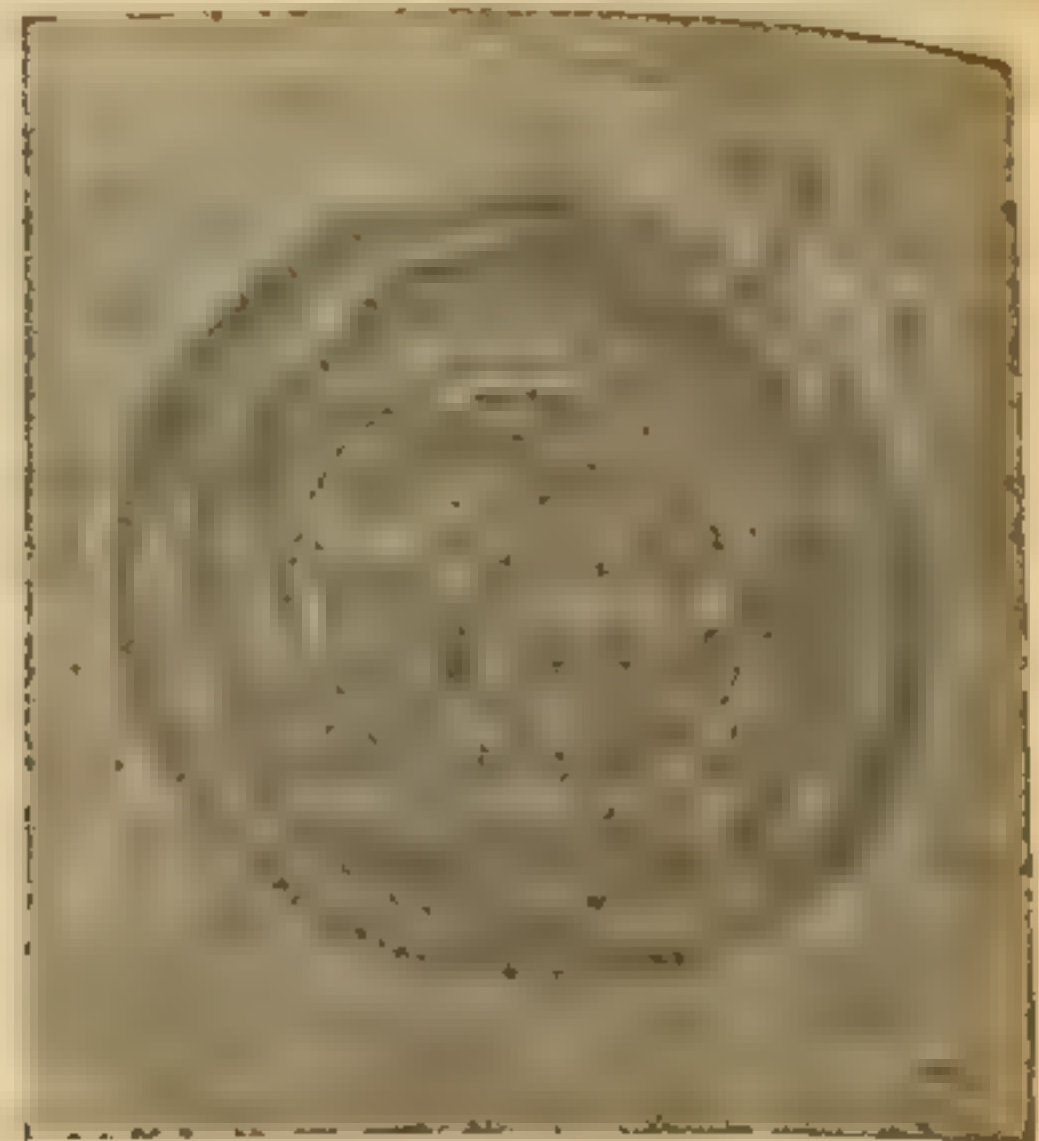


Рис. 270. Цепень крысиный — *Hymenolepis diminuta*. Яйцо в испражнениях. Увелич. в 550 раз.

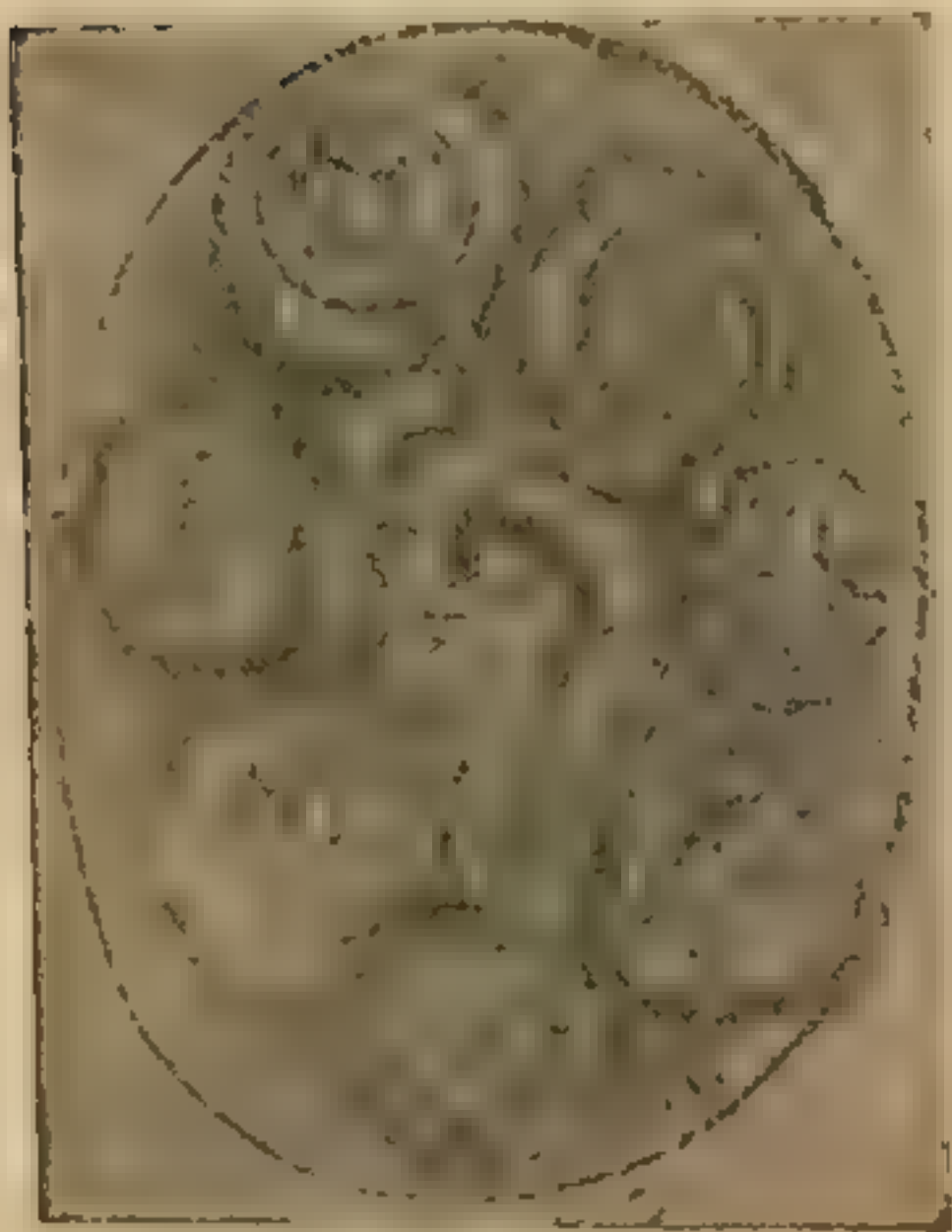


Рис. 271. Цепень тыквовидный — *Dipylidium caninum*. Кокон с яйцами.



Рис. 272. Эхинококк — *Echinococcus granulosus*. Паразиты, выделенные из кишечника собаки. Натуральная величина.



Рис. 273. Эхинококк — *Echinococcus granulosus*. Паразит. Увеличение в 20 раз.

жат передатчиками заразы человеку. Человек заражается при проглатывании блох и некоторых других насекомых, что чаще всего случается с детьми в связи с их близким контактом с домашними животными.

ж) *Echinococcus granulosus*, s. *Tapia echinococcus*, — цепень эхинококка (рис. 272 и 273). Из встречающихся паразитов имеет наибольшее патологическое значение. Он является у человека возбудителем очень тяжелого, нередко неизлечимого заболевания, подробно описываемого в руководствах по патологии внутренних органов. В диагнозе эхинококкоза гельминтологическое исследование не играет первенствующей роли, так как эхинококк чаще гнездится в органах, не сообщающихся с внешней средой, и отдельные части паразита (крючья, обрывки обо-



лочки пузыря) лишь редко выводятся наружу; однако исследование мокроты, экскрементов, дуоденального сока и мочи иногда все же может сыграть решающую роль, так как положительный результат исследования позволяет поставить диагноз с неопровержимой достоверностью.

Особенностью цепenea эхинококка является то, что в противоположность широкому лентецу и другим ленточным червям, зрелый паразит живет в кишечнике собаки; у человека же паразитирует финнозная его стадия. Финнозная стадия паразитирует также у рогатого скота (козы, овцы) и свиней. Другая его особенность та, что стробила зрелого паразита едва достигает 5—6 мм длины; финнозная же стадия разрастается до больших размеров и может достигать величины детской головки. Стробила зрелого паразита имеет длину 2—6 мм и состоит из 3—4 члеников: одного-двух бесполов, одного гермафродитного и одного зрелого, наполненного громадным количеством яиц и занимающего около половины длины паразита. Сколекс снабжен хоботком, вооруженным двойным венцом крючьев. Яйца овальные, размером  $30-36 \times 21-30 \mu$ ; снабжены толстой двуконтурной, радиально исчерченной оболочкой.

Жизненный цикл. Окончательный хозяин эхинококка — собака — рассеивает с испражнениями членики паразита и его яйца. Оболочка оплодотворенных яиц, попавших в пищеварительный тракт человека или другого промежуточного хозяина, растворяется, освободившиеся зародыши проникают в толщу кишечника, а оттуда через венозные и лимфатические сосуды в кровеносную систему. Нередко они застревают в кровеносных сосудах печени, вследствие чего печень является наиболее частым местом локализации эхинококка. Далее, они могут застревать в легочных капиллярах и капиллярах любого органа. Где бы они ни внедрились, эхинококки постепенно, в течение 7—15 дней, превращаются в пузырьчатую форму. Последняя состоит из материнского пузыря, наполненного жидкостью, внутренние стенки которого способны образовывать вторичные, дочерние пузыри. В последних развиваются многочисленные сколексы, а также внучатые пузыри с головкой. Материнский пузырь может образовывать дочерние пузыри также и путем наружного почкования. Рост образовавшегося пузыря протекает очень медленно: через 5 месяцев он обычно имеет величину около 5 мм. В дальнейшем, однако, пузырь может приобретать очень большие размеры. Описаны случаи, когда эхинококковый пузырь содержал больше 10 л жидкости.

Различают эхинококк однокамерный и многокамерный. Однокамерный представляет собой пузырь различных размеров (от величины просяного зерна до размера детской головки), наполненный жидкостью. Он может локализоваться в самых различных органах. В полости многокамерного или альвеолярного эхинококка жидкости нет. Она заполнена конгломератом мелких сдавленных пузырьков. Многокамерный эхинококк поражает почти исключительно печень.

Лабораторная диагностика. В случаях вскрытия эхинококковых пузырей в кишечник в испражнениях, а иногда и в дуоденальном соке могут находиться характерные крючья, куски оболочки и даже сколексы эхинококка.

Нахождение крючьев в испражнениях — очень нелегкая задача, ввиду их ничтожной величины, а также потому, что они встречаются в небольшом количестве. Некоторым облегчением этой задачи является применение метода Телемана. Крючья и оболочка эхинококка изображены на рис. 101. Форма крючьев настолько характерна, что, найдя под микроскопом, не трудно их распознать. Что касается оболочки, то она представляется совершенно прозрачной и бесцветной, с трудом отличимой



от фона. Упоминаемая во всех руководствах исчерченность имеет вид очень тонких, нежных линий, лежащих правильными параллельными рядами. При внимательном рассматривании эти линии состоят как бы из мельчайших точек. Описание сколекса и оболочки см. отдел III «Мокрота».

3) **Трематоды (сосальщики).** а) **Морфология.** Трематоды паразитируют у человека значительно реже, чем ленточные черви. Они характеризуются листовидной формой тела и наличием присосок — ротовой и одной или несколькими брюшными. Ротовое отверстие служит большей

частью и анальным; оно лежит на дне ротовой присоски и переходит в слепо оканчивающуюся кишечную трубку. Большинство сосальщиков — гермафродиты.

б) **Жизненный цикл** сходен с циклом ленточных червей, так как характеризуется также двумя фазами развития: финнозной и половозрелой, причем финнозная стадия протекает в теле промежуточного хозяина. У сосальщиков чаще, чем у ленточных глистов, наблюдается двойная смена хозяев. Промежуточными хозяевами являются различные виды моллюсков. При двойной смене хозяев дополнительным хозяином является

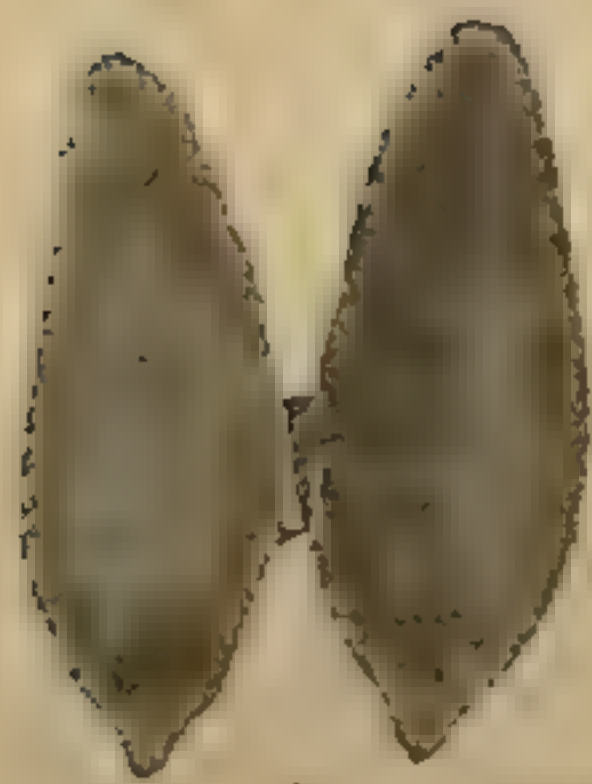


Рис. 274. Печеночная двуустка — *Fasciola hepatica*. Паразит натуральной величины.

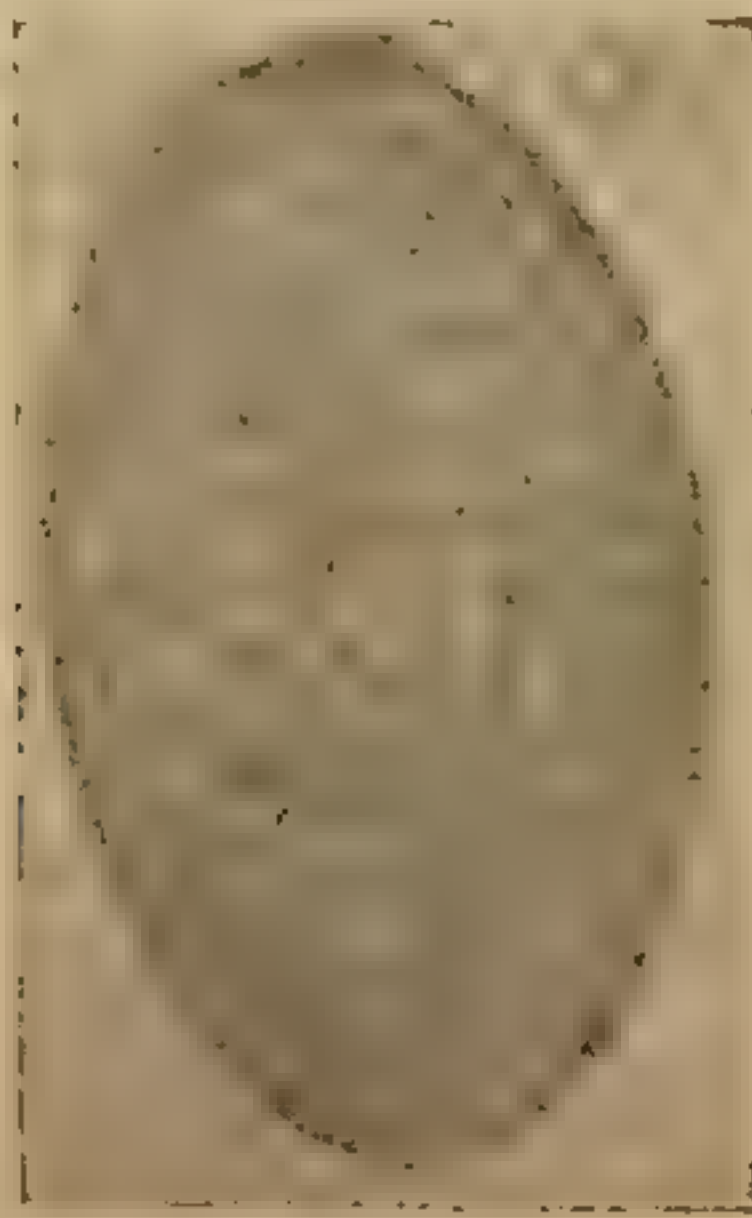


Рис. 275. Печеночная двуустка — *Fasciola hepatica*. Яйцо. Большое увеличение.

рыба или краб. Трематоды, развивающиеся с одним промежуточным хозяином, попадают в организм человека из водной среды активно через кожные покровы или пассивно — с питьевой водой, а развивающиеся с промежуточными и дополнительными хозяевами — при поедании человеком зараженной рыбы или крабов.

4) **Отдельные представители.** а) *Fasciola hepatica*, s. *Distomum hepaticum*, — двуустка печеночная (рис. 274 и 275). Паразит имеет форму древесного листа. Длина его 20—30 мм, ширина 8—12 мм. Тело снабжено двумя присосками: одна на головном конце, другая на брюшной поверхности, недалеко от первой. Яйца очень крупные — 130—145 м длины и 70—90 м ширины, овальной формы, бурого цвета, с крышечкой. Через яйцевую оболочку ясно просвечивают яйцевые клетки.

Яйца изредка бывают транзитными, т. е. в пищеварительный канал человека попадают яйца, содержащиеся в печени различных млекопитающих (овцы, козы, крупный рогатый скот). Эти яйца неспособны к развитию в кишечнике человека, они могут развиваться только в теле промежуточного хозяина.

Печеночная двуустка у травоядных животных — широко распространенный паразит. Паразитирует в желчных путях рогатого скота и изредка у человека, у которого может вызвать тяжелые заболевания печени. Человек заражается при питье сырой воды или при поедании зелени, поливаемой водой из водоемов, содержащих личинки паразита.

В СССР  
рис. 276 и 277  
той формы  
предыдущий

Рис. 276. Ланцетное  
*Discoscoelium lanceolatum*  
(транзитное) в  
ка. Увели

метричные — 38  
ные яйца желто  
кой и крышечк  
попадает п  
Однако довод  
полной безвре  
ются наблюд  
ров.

При нах  
паразитов н  
виду, что  
вают транз  
печеночная  
ные яйца  
тельно ча  
тов, обит  
человека.  
Яйца  
тизме от  
тем, что  
клетки;  
живому  
вого, со  
форменн  
этому п  
исследо  
паразита  
38 Рук



В СССР встречается в Средней Азии и Закавказье.

б) *Dicrocoelium lanceatum* — двуустка ланцетовидная (рис. 276 и 277). Тело этого паразита довольно прозрачно, ланцетовидной формы; длина его 5—15 мм, ширина 1,5—2,5 мм. Имеет, как и предыдущий паразит, две присоски. Яйца довольно мелкие, слегка асим-



Рис. 276. Ланцетовидная двуустка — *Dicrocoelium lanceatum*. Незрелое яйцо (транзитное) в испражнениях человека. Увеличение в 550 раз.

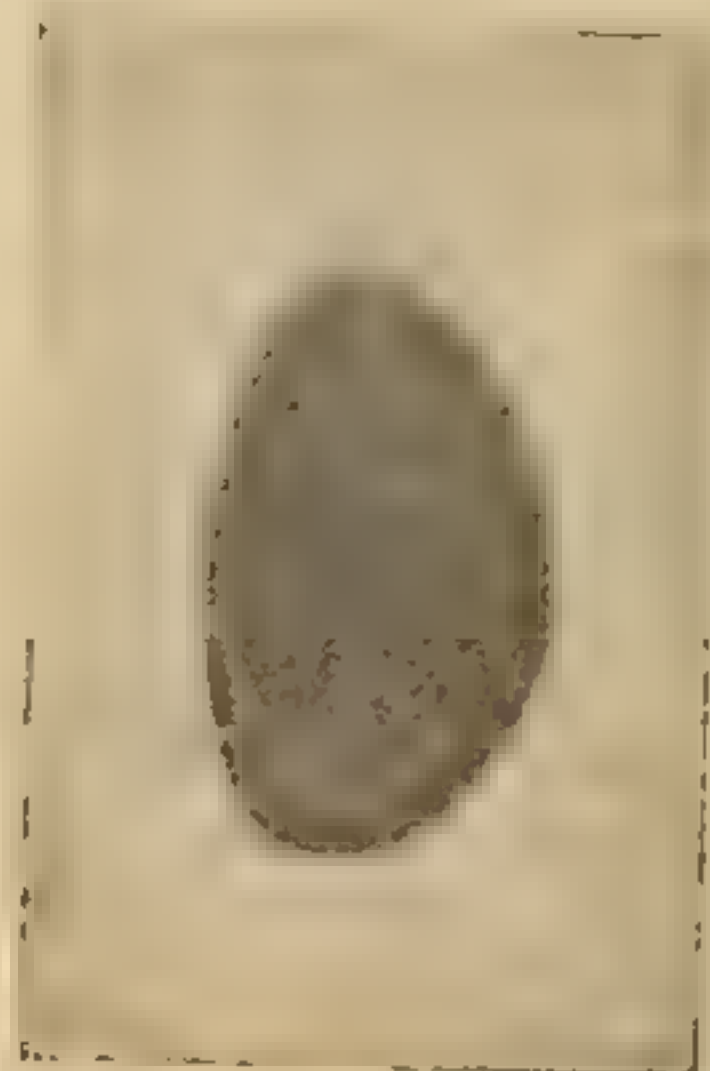


Рис. 277. Ланцетовидная двуустка — *Dicrocoelium lanceatum*. Зрелое яйцо. Увеличение в 550 раз.

метричные — 38—45  $\mu$  длиной и 22—30  $\mu$  шириной, овальной формы; незрелые яйца желтоватого цвета, зрелые — темнокоричневого, с толстой оболочкой и крышечкой; они содержат 2 крупные клетки; иногда в испражнениях попадает пустая скорлупа яйца. Паразит менее опасен, чем предыдущий. Однако доводы сторонников его полной безвредности опровергаются наблюдениями ряда авторов.

При нахождении яиц этих паразитов необходимо иметь в виду, что эти яйца часто бывают транзитными (см. выше — печеночная двуустка). Транзитные яйца встречаются значительно чаще, чем яйца паразитов, обитающих в кишечнике человека.

Яйца при истинном паразитизме отличаются от транзитных тем, что содержат 2 крупные клетки; этот признак присущ живому яйцу в отличие от мертвого, содержащего лишь бесформенную массу. Однако признак этот недостаточно отчетлив, и поэтому при нахождении яиц необходимо через несколько дней повторить исследование, исключив из пищи печеньку во всех видах. Цикл развития паразита — см. выше.

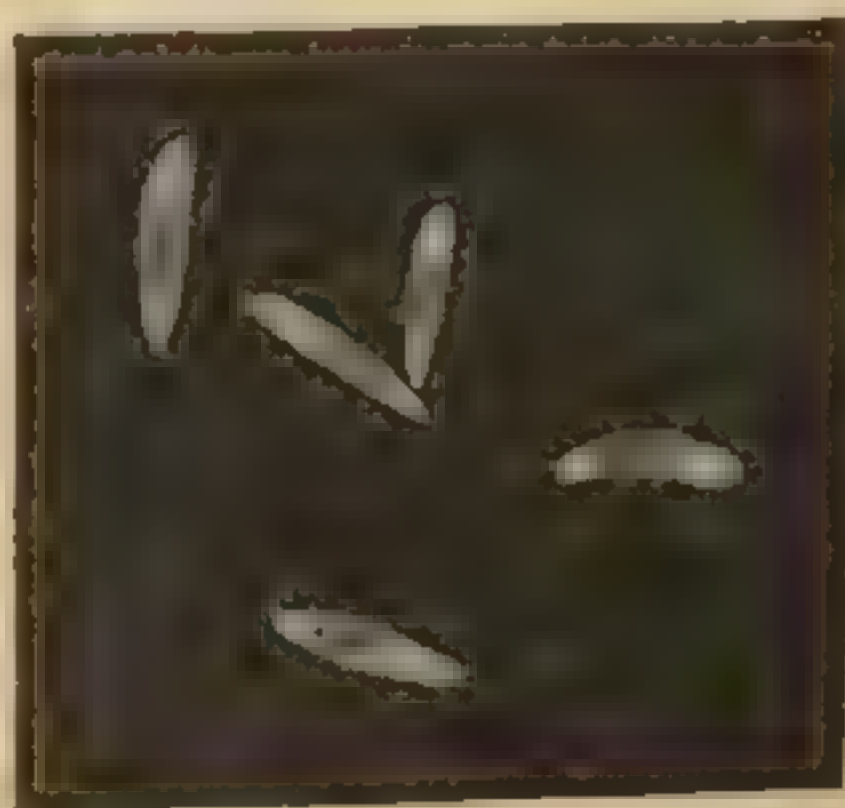


Рис. 278. Сибирская двуустка — *Opisthorchis felipeus*. Паразит. Натуральная величина.



Рис. 279. Сибирская двуустка — *Opisthorchis felipeus*. Яйцо в желчи человека. Увеличение в 550 раз.



в) *Opisthorchis felineus*, s. *Distomum felineum*, s. *sibiricum*, — двуустка сибирская, или кошачья (рис. 278 и 279). Тело паразита имеет удлиненную форму, спереди заострено, сзади округлено, снабжено ротовой и брюшной присоской. Длина тела 8—13 мм, ширина 1,2—2 мм. Яйца очень мелкие, значительно мельче яиц ланцетовидной двуустки —  $26-30 \times 10-15 \mu$ . Цвет их светлый, желтовато-зеленоватый. На одном из полюсов имеется крышечка, на другом — утолщение в виде маленького штифтика. Форма неправильно овальная, несколько суженная на одном полюсе.



Рис. 280. Китайская двуустка — *Clonorchis sinensis*. Паразит в натуральную величину.

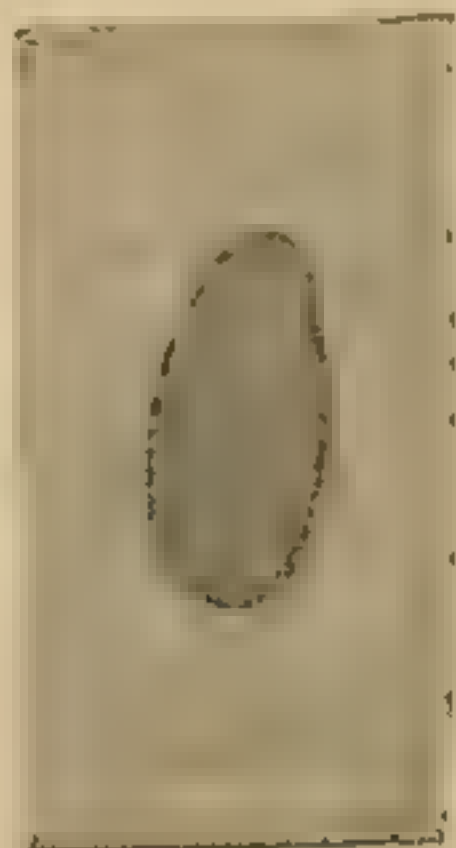


Рис. 281. Китайская двуустка — *Clonorchis sinensis*. Яйцо. Увеличение в 550 раз.

Яйца в кале встречаются в очень небольшом количестве, к тому же они очень мелкие; чтобы их найти, требуется очень внимательный просмотр многих препаратов. Легче, чем в испражнениях, они обнаруживаются в дуоденальном соке.

Промежуточный хозяин — моллюски, дополнительный — пресноводные рыбы. Человек заражается при поедании сырой или плохо проваренной зараженной рыбы. Сибирская двуустка паразитирует обычно у собак и кошек и довольно широко распространена в Европейской части СССР. У человека этот паразит часто



Рис. 282. Шистосома Мансона — *Schistosoma mansoni*. Самка и самец.

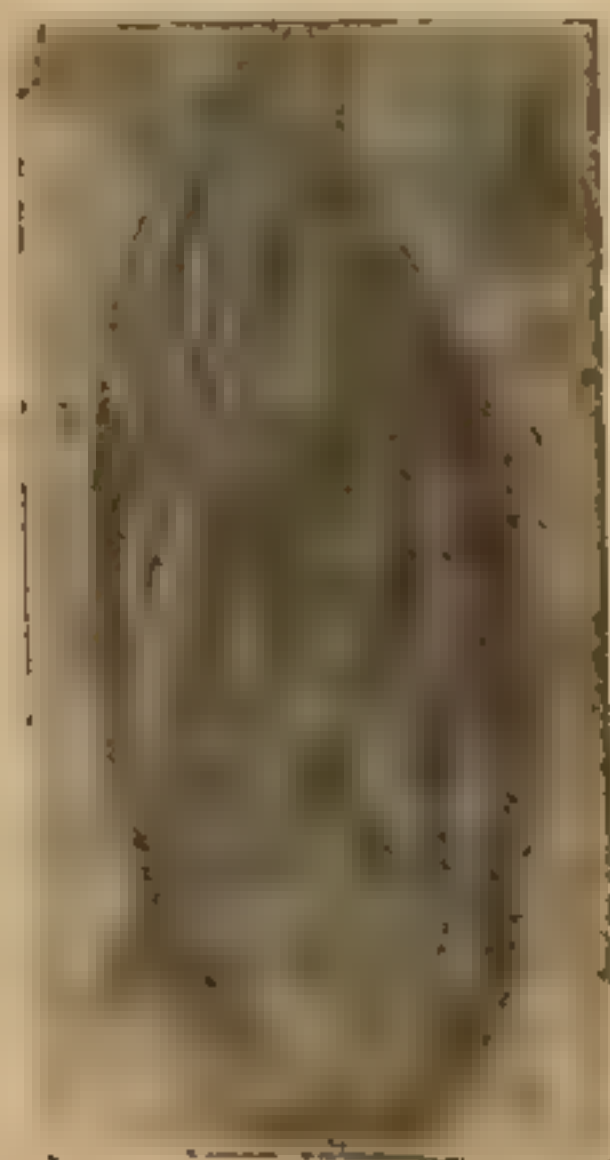


Рис. 283. Шистосома Мансона — *Schistosoma mansoni*. Яйцо. Нативный препарат. Большое увеличение.

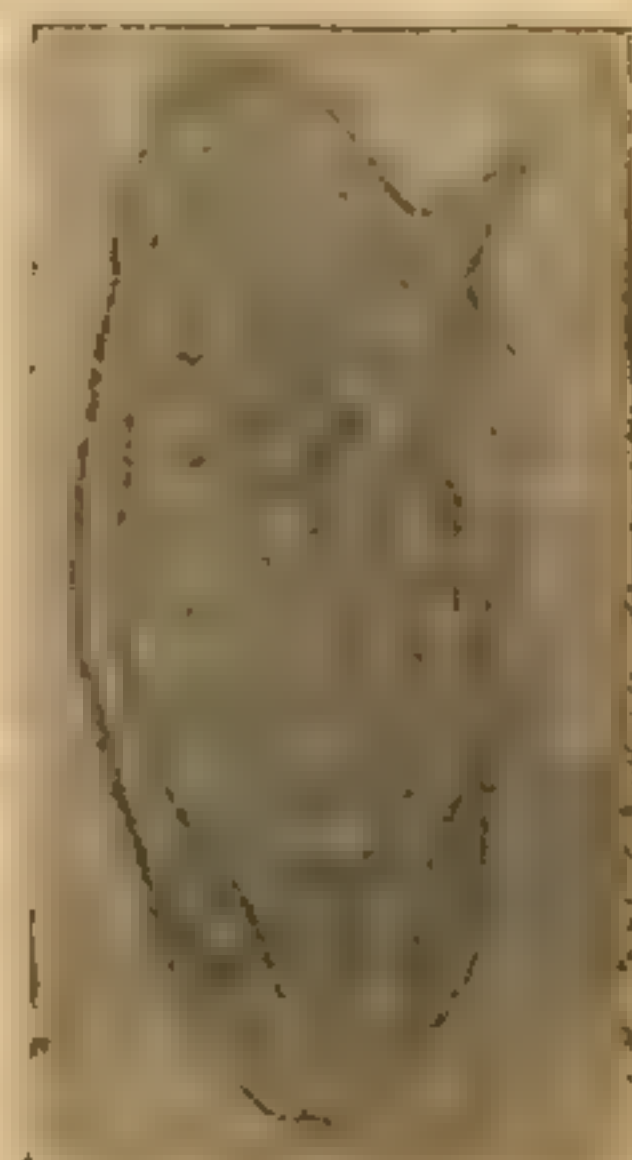


Рис. 284. Шистосома Мансона — *Schistosoma mansoni*. Яйцо после обработки по Теллману.

встречается в Сибири, преимущественно Западной, а также на Урале. Отдельные случаи установлены и на Украине.

Патогенное влияние паразита выражается в тяжелых болезненных явлениях со стороны печени, желчных ходов и поджелудочной железы.



г) *Clonorchis sinensis* — двуустка китайская (рис. 280 и 281). Паразит, очень близко стоящий к сибирской двуустке. Встречается в Китае и Японии, реже на Дальнем Востоке. Как и сибирская двуустка, несомненно, патогенен. Яйца китайской двуустки настолько сходны с яйцами сибирской, что дифференцировать паразитов по яйцам невозможно.

д) *Paragonimus ringeri*, s. *westermani*, — двуустка легочная — см. «Мокрота», стр. 289.

е) *Schistosoma mansoni* Sambon — шистозома Мансона (рис. 282, 283 и 284). Паразит в отличие от других трематод — не гермафродит. В СССР был обнаружен в единичных случаях, завезенных из южных стран. В Южной Америке и Африке широко распространен. Паразиты живут в кровеносных сосудах толстых кишок и печени и вызывают заболевание с симптомами дизентерии.

Диагноз ставится по нахождении яиц в кале. Яйца паразита удлиненно-овальной формы и снабжены бросающимся в глаза латеральным шипом, лежащим ближе к широкому полюсу яйца. Внутри яйца иногда можно различить развитой подвижной зародыш. Яйца очень крупные —  $140-160 \times 70 \mu$ , так что по размерам они не уступают яйцам печеночной двуустки.

ж) *Nauphyetes schikhobalowi* — нанофиетес Шихобаловой. Эта трематода представляет особый интерес, так как яйца ее по форме, величине и структуре не отличаются от яиц широкого лентеца. Тело этой трематоды яйцевидной формы, суживающееся кпереди, задний конец широко округлен. Длина тела  $0,56-0,58$  мм, наибольшая ширина  $0,35-0,47$  мм; имеет две присоски — ротовую и брюшную.

Размеры яиц  $65-72 \times 44-48 \mu$  с крышечкой и маленьким тупым выростом на противоположном полюсе яйца. Паразит описан в 1929 г. Скрыбиным, Подъяпольской и Шихобаловой. Он встречается на Дальнем Востоке. Патогенное значение и жизненный цикл не изучены.

5) **Круглые черви** — нематоды. Представители последних далеко не все паразиты; многие из них живут свободно в различных водоемах, а также в сырой земле. Паразитические представители их встречаются у различных позвоночных и беспозвоночных животных, а также на растениях. Круглые глисты значительно больше распространены, чем плоские; так, например, острицей поражено около 80% населения земного шара.

а) **Морфология.** Тело круглых червей имеет веретенообразную или нитевидную форму; длина их различна — от 1 мм до 20 см и больше. Тело не разделено на членики. В отличие от плоских червей почти все круглые черви являются раздельнополыми; гермафродитизм наблюдается лишь в виде исключения. Самцы обычно меньше самок.

Снаружи тело одето кутикулой, большей частью исчерченной в продольном или косом направлении. Под кутикулой расположен мышечный слой, а под ним — изоляционная ткань, в которой заложены пищеварительные органы.

Пищеварительные органы, несмотря на паразитический образ жизни, сохранились; они состоят из рта, пищевода, кишечника и ануса. Рот иногда бывает окружен 2—6 кутикулярными выростами (так называемыми губами) или же особым венчиком торчащих кпереди кутикулярных лепестков — *Соропа radiata*. Нередко рот ведет не прямо в пищевод, а в особую полость — ротовую капсулу, снабженную хитиновыми зубцами. При помощи ротовой капсулы паразит присасывается к тканям хозяина, а зубцами скарифицирует их.

Пищевод — короткая прямая трубка, с одним или двумя глоточными вздутиями, разделенными перетяжкой.



Последняя форма характерна для молодых, незрелых, личинок, носящих название рабдитных. Более зрелые — филариевидные личинки — имеют прямой пищевод.

Половая система у женских особей состоит из 2 трубчатых яичников, яйцепроводов и маток; обе матки сливаются в короткий непарный канал — вагину, наружное отверстие которого (вульва) может распо-



Рис. 285. Аскарида человеческая — *Ascaris lumbricoides*. Самец. Вверху — головной конец, внизу — хвостовой. Уменьшено.

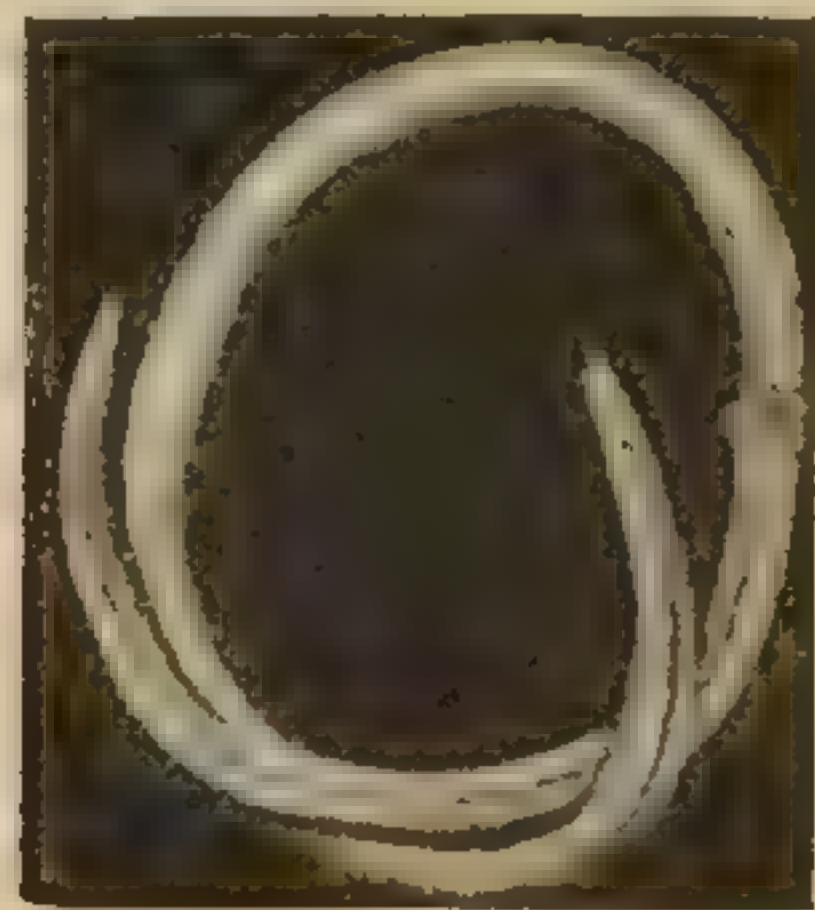


Рис. 286. Аскарида человеческая — *Ascaris lumbricoides*. Самка. Наверху — головной конец, направо — хвостовой.

лагаться в самых различных частях тела. У мужских особей половые органы одиночные; у самцов имеются вспомогательные половые органы — спикеры, т. е. шипы для копуляции, рулек, направляющий движение

спикер в нужную сторону, а иногда и копулятивная сумка (бурса). Бурса представляет собой полость, образующуюся при смыкании хвостовых крыльев — особых выростов боковых частей тела на хвостовом конце.

б) Жизненный цикл. Жизненный цикл круглых червей очень разнообразен: одни из них нуждаются в промежуточном хозяине, другие все стадии развития проходят в одном и том же хозяине. Общими для всех являются две фазы развития — личиночная и половозрелая. В отличие от плоских глистов среди них имеются живородящие, у которых весь процесс эмбрионального развития



Рис. 287. Мигрирующая личинка нематоды в мокроте человека. Увеличение в 40 раз.

яйца проходит в половых органах и из отверстия вульвы выходят вполне сформированные личинки. Яйца яйцекладущих выбрасываются с калом в самых различных стадиях развития — несегментированными, сегментированными на 2—8 или же 32—64 бластомеры и, наконец, содержащими сформированную личинку, представляя тем самым как бы переходные стадии между яйцекладущими и живородящими нематодами.

Миграция. Личинки некоторых круглых червей (аскарид, анкилостомид, трихостронгилид и др.), попав в желудочно-кишечный тракт, не



удерживаются там, а предварительно проделывают сложную миграцию: личинка, вылупившаяся из яйца в желудочно-кишечном тракте хозяина, пробуравливает стенку кишечника, попадает в кишечные вены, оттуда через воротную вену в печень, далее, в верхнюю полую вену, правое сердце и через легочную артерию в легкие. Затем личинка внедряется в легочные альвеолы, откуда активно мигрирует в бронхи, трахею и ротовую полость. Из ротовой полости она проглатывается со слюной и, попав вторично в желудочно-кишечный тракт, задерживается в нем, растет и превращается в зрелого паразита.

На различных этапах миграции личинки могут вызывать у хозяина токсические и механические нарушения. При интенсивной инвазии особенно резкие изменения наблюдаются в легких. В случаях, закончившихся летально, у животных находили уплотнение легочной ткани и окраску ее сплошь в темнокрасный цвет от множественных кровоизлияний. У человека в самоэксперименте наблюдалась ржавая мокрота, притупление в легких с повышением температуры, личинки аскарид в мокроте.



Рис. 288. Аскарида человеческая — *Ascaris lumbricoides*. Оплодотворенное яйцо овальной формы, покрытое белковой оболочкой. Большое увеличение.



Рис. 289. Аскарида человеческая — *Ascaris lumbricoides*. Оплодотворенное яйцо круглой формы, покрытое белковой оболочкой. Большое увеличение.

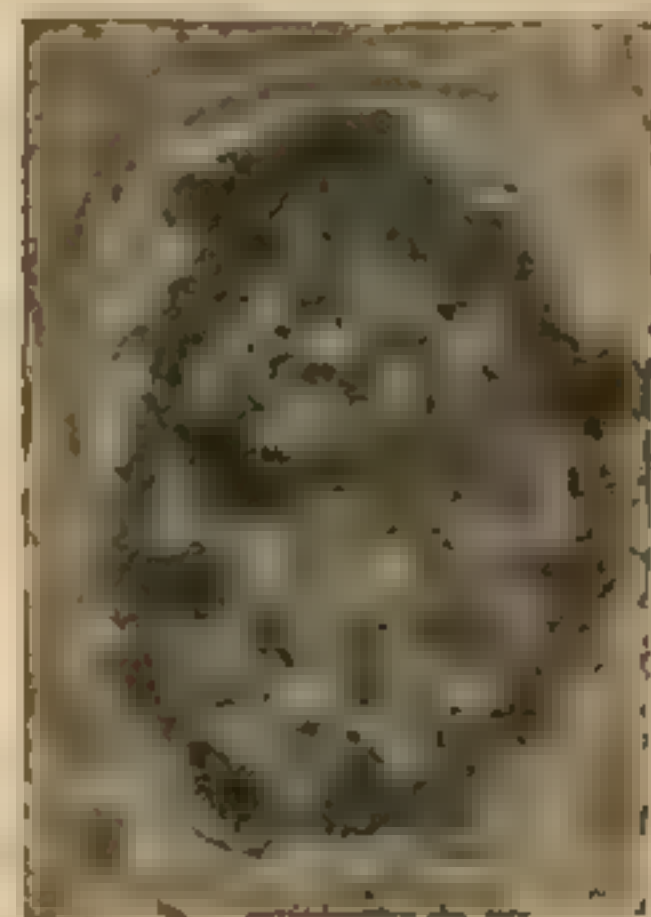


Рис. 290. Аскарида человеческая — *Ascaris lumbricoides*. Неоплодотворенное яйцо, покрытое белковой оболочкой. Большое увеличение.

6) **Отдельные представители.** а) *Ascaris lumbricoides* — аскарида человеческая (струнец) (рис. 285, 286 и 287). Аскарида — самая крупная нематода, похожа на дождевого червя, веретенообразной формы, розоватого цвета. Самец имеет длину 150—250 мм, самка — 250—400 мм. Хвостовой конец самца заострен и загнут крючком в брюшную сторону. Головка паразита имеет три губы с осязательными сосочками и зубцами; на хвостовом конце самца находится отверстие клоаки, из которого торчат две длинные спикулы (шпы для копуляции).

Яйца (рис. 288, 289 и 290). В кале встречаются яйца оплодотворенные и неоплодотворенные (откладываются неоплодотворенной самкой). Типичные оплодотворенные яйца слегка овальной формы, размером 60—70 × 40—50 м. Они снабжены толстой двуконтурной оболочкой, поверх которой имеется белковая оболочка неправильной бугристой формы, окрашенная пигментами кала в темножелтый или коричневый цвет. Иногда белковая оболочка отсутствует; тогда яйцо одето только гладкой прозрачной бесцветной оболочкой. Неоплодотворенные яйца значительно менее правильной формы. Размеры их отличаются большим разнообразием (50—100 м длины). Разнообразна также и их форма: чаще всего они удлинено-овальные, но встречаются и круглые, трехгранные, а иногда совершенно неправильные.



вильные. Содержимое их составляют плотно набитые, довольно крупные желточные тела. Белковая оболочка также окрашена, но она значительно тоньше и иногда дает резко выделяющиеся выступы. В редких случаях обнаруживаются неоплодотворенные яйца без белковой оболочки; эти яйца похожи на нередко встречающиеся в кале растительные клетки, за которые их, несомненно, часто принимают. Яйца аскарид встречаются в кале обычно в небольшом количестве.

Жизненный цикл и патогенное значение. Перистальтическими движениями кишечника яйца аскарид, выделенные самками, выбрасываются вместе с экскрементами хозяина во внешнюю среду. Эти яйца выделяются совершенно незрелыми и, для того чтобы вызвать заражение, должны полежать во внешней среде, в земле или воде, загрязненных фекалиями, чтобы дозреть, т. е. сформировать личинку. Дозревание происходит только при доступе кислорода, поэтому яйцо в кишечнике без выхода во внешнюю среду развиваться не может. Срок развития яйца аскариды

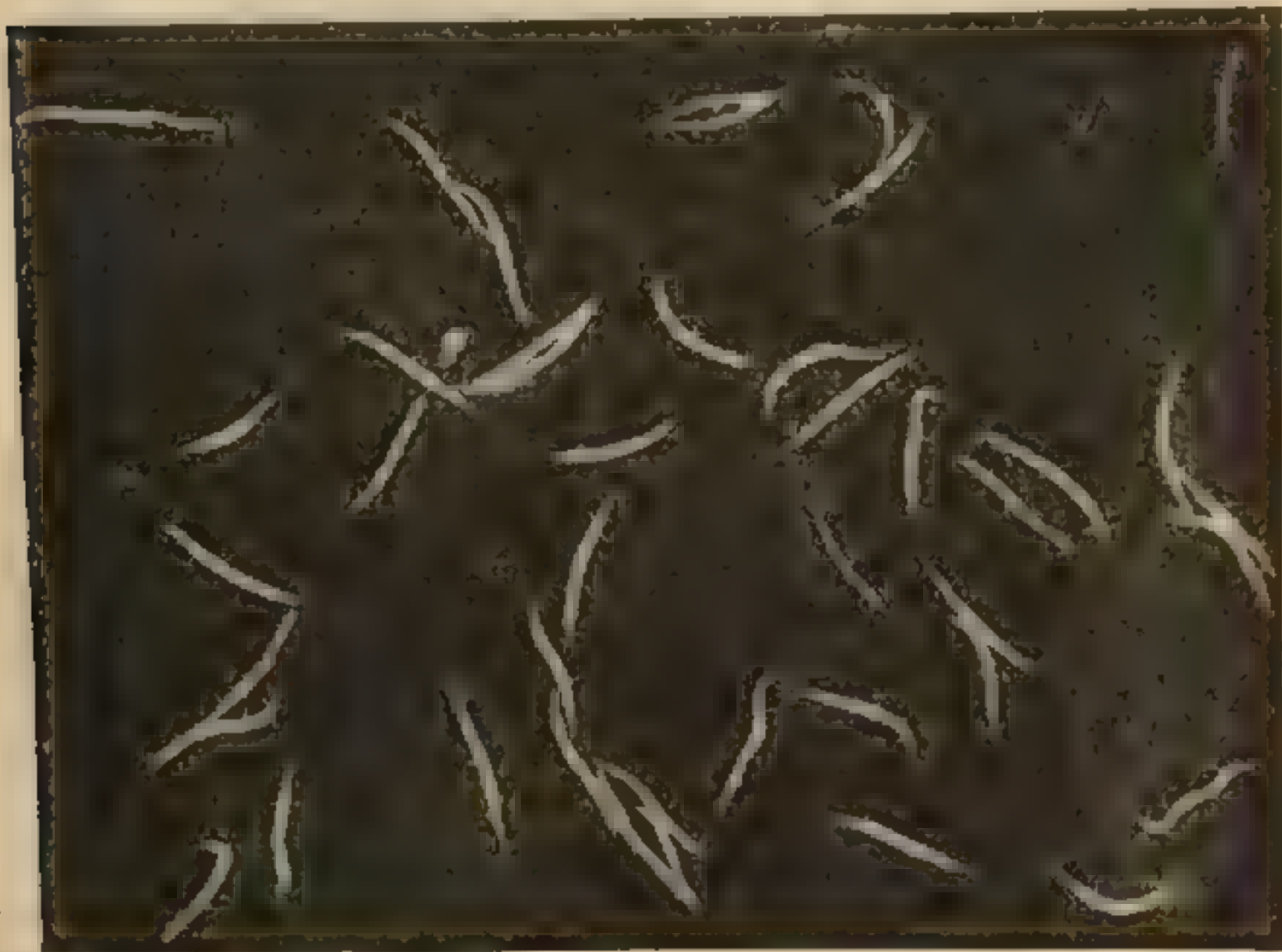


Рис. 291. Острица — *Enterobius vermicularis*. Самки в натуральную величину.



Рис. 292. Острица — *Enterobius vermicularis*. Яйцо в испражнениях. Увеличение в 550 раз.

довольно продолжителен; он в значительной степени зависит от температуры, влажности почвы и т. д. Поэтому сроки, указываемые разными авторами, очень различны — от 15 до 40 дней. Благодаря длительному сроку созревания яиц непосредственный контакт с инвазированным человеком представляет мало опасности.

Яйца аскариды очень устойчивы по отношению к различным химическим и механическим воздействиям, а также по отношению к низким температурам. Они более чувствительны к высоким температурам: уже при 60° яйца гибнут в течение 2 минут, а при 75° — в течение 1 секунды. В консервированных фекалиях они долгое время остаются жизнеспособными. Имеются указания, что яйца аскариды могут сохранять жизнеспособность в течение 5 лет.

Аскариды развиваются прямым путем, без участия промежуточного хозяина, причем в теле своего единственного хозяина проделывают длительную миграцию (см. выше).

Зрелые аскариды паразитируют преимущественно в тонких кишках; отсюда они заползают в желудок, рот, нос, могут заползать в гортань,



бронхи, желчный проток. Заползание в желчный проток может вызвать полную его закупорку, иногда с летальным исходом. Проникновение в дыхательные пути дает большой процент смертности.

Продолжительность жизни аскариды у человека около 2 лет.

При обычной локализации в кишечнике наблюдается ряд токсических явлений: со стороны желудочно-кишечного тракта — тошнота, рвота, отсутствие аппетита, слюнотечение; со стороны кожи — зуд, крапивница; со стороны нервной системы — головные боли, головокружение, обмороки, судороги, менингоподобные явления и т. д. Нередко, однако, аскариды не вызывают патологических явлений и бывают случайной находкой.

Чаще всего паразитирует один или несколько экземпляров, но иногда их значительно больше. Описан случай, когда у одного больного в результате лечения выделилось 5126 паразитов.

б) *Enterobius vermicularis*, s. *Oxyuris vermicularis*, — острица (рис. 291 и 292). Белый нитевидный паразит длиной 4—12 мм. Головка имеет вид пуговки с тремя шишкообразными губами и значительным кутикулярным утолщением. Ротовое отверстие переходит в пищевод, оканчивающийся расширением — бульбусом, в котором заложены хитиновые пластинки. Длина самца 2—5 мм. Хвостовой конец самца закручен кверху, снабжен крыльями, одной спикулой и 4 парами половых сосочков, из которых 3 пары лежат впереди ануса и одна — позади. Длина самки — 9—12 мм, хвостовой конец ее заострен. Отверстие вульвы находится на границе передней и средней трети тела; яичники и матка парные; анус помещается на 2 мм впереди от хвостового конца.

Яйца овальной формы, несколько асимметричные, с одной уплощенной стороной; длина их 50—60 м, ширина 20—30 м. Оболочка яиц совершенно бесцветная. Содержимое мелкозернистое или содержит личинку, имеющую вид свернувшегося колечком червя.

Поскольку острицы для кладки яиц выходят наружу из кишечника, яйца в кале не обнаруживаются или же встречаются в виде исключения. Чаще в кале можно отыскать самих паразитов в виде тонких белых нитечек. Так как кал может содержать и другие составные части, которые легко смешать с острицами, то для распознавания необходимо рассмотреть паразита под микроскопом с малым увеличением.

Чтобы найти яйца, обычно пользуются перианальным соскобом, т. е. соскобом материала с поверхности кожи в окрестности ануса; ректальным соскобом, т. е. исследованием ректальной слизи, и исследованием подногтевых пространств. Способ взятия материала — см. стр. 582.

Жизненный цикл. Выделенные во внешнюю среду яйца очень быстро, уже через 6 часов, созревают. Зрелые яйца попадают в желудок, где зародыш освобождается и развивается в зрелого паразита. Путем самоэксперимента установлено, что процесс развития паразита с момента проглатывания яиц длится 2—4 недели. Острицы паразитируют в нижнем отрезке тонких кишок и на всем протяжении толстых кишок. Оплодотворенные самки, переполненные яйцами, теряют способность фиксироваться на слизистой оболочке и быстро опускаются в толстые кишки и прямую кишку, выползают из заднего прохода и откладывают яйца в его окрестности. У девочек и женщин они иногда попадают во влагалище.

Из сказанного видно, что освободившиеся в кишечнике человека личинки непосредственно поселяются в нем, не проделав миграции в кровяном русле.

Самое выползание из прямой кишки происходит преимущественно ночью, на 2—3-м часу пребывания в постели. Процесс кладки яиц обычно



заканчивается через 15—20—45 минут после выползания паразита. По окончании этого процесса самка сморщивается и погибает.

Острица развивается прямым путем без промежуточного хозяина. Человек является ее единственным хозяином; у животных она не паразитирует. Продолжительность жизни ее у человека около 3 недель. В настоящее время установлено, что новое заражение человека возможно только путем проглатывания яиц, побывавших во внешней среде и подвергшихся воздействию кислорода. Так как созревание яиц происходит очень быстро, то нужна чрезвычайная чистоплотность, чтобы человек, инвазированный острицами, не подвергался повторному самозаражению.

Патогенное значение. Из болезненных явлений, причиняемых острицей, на первом месте следует отметить ночной зуд в области ануса, достигающий иногда мучительной степени и лишаящий больного сна и покоя. Заползание остриц в вагину вызывает раздражение гениталий. У мужчин зуд в области наружных половых органов может вызывать поллюции. У женщин заползание в мочевой пузырь вызывает расстройство



Рис. 293. Власоглав — *Trichocephalus trichiuris*. 3 самца и 4 самки в натуральную величину.



Рис. 294. Власоглав — *Trichocephalus trichiuris*. Яйцо в испражнениях человека. Увеличение в 550 раз.

мочеиспускания. Со стороны кишечника иногда наблюдается хроническое катарральное состояние, потеря аппетита, рвоты. Помимо токсических явлений, острицы могут причинять вред и механическим путем: внедряясь в кишечную стенку, они либо вызывают местное раздражение слизистой оболочки, либо при проникновении бактерий в образовавшиеся дефекты слизистой — острые воспалительные явления, абсцессы, некрозы. Некоторые авторы приписывают им также большую роль в этиологии аппендицита.

Влияние остриц на нервную систему аналогично влиянию аскарид.

Заражение происходит через пищу и предметы, к которым прикасались руками, загрязненными яйцами паразита.

Острица — наиболее частый паразит человека, встречающийся во всех частях земного шара. Ею инвазированы не только дети, но в значительной степени и взрослые. В кишечнике может паразитировать несколько тысяч остриц.

в) *Trichocephalus trichiuris* — власоглав (рис. 293 и 294). Очень распространенный паразит, но в отличие от аскариды поражает больше городское население.



Хвостовой конец паразита короткий, толстый, а головной — длинный, тонкий. Самец имеет длину 35—40 мм, самка — 35—55 мм. Рот примитивный, без губ. На хвостовом конце самца одна спикула, лежащая в спикулярном влагалище. Длина спикулы 2,5 мм. Спикулярное влагалище покрыто густо расположенными шипиками. У самки вульва расположена на границе между тонкой и более толстой частью тела.

Яйца власоглава очень типичны; по форме они напоминают лимон или боченок с пробочками на полюсах. Яйца снабжены резко очерченной двуконтурной оболочкой коричневого цвета; на обоих полюсах их имеются блестящие вздутия, наподобие пуговиц. Размеры яиц: длина 50—54 м и ширина 23 м.

Паразит живет в слепой кишке и червеобразном отростке, реже в других отделах кишечника.

Жизненный цикл и патогенное значение. Власоглав развивается без промежуточного хозяина. Яйца выделяются несегменти-



Рис. 295. Анкилостома двенадцатиперстная — *Ancylostoma duodenale*. Головной конец (по Скрабину и Шульцу).

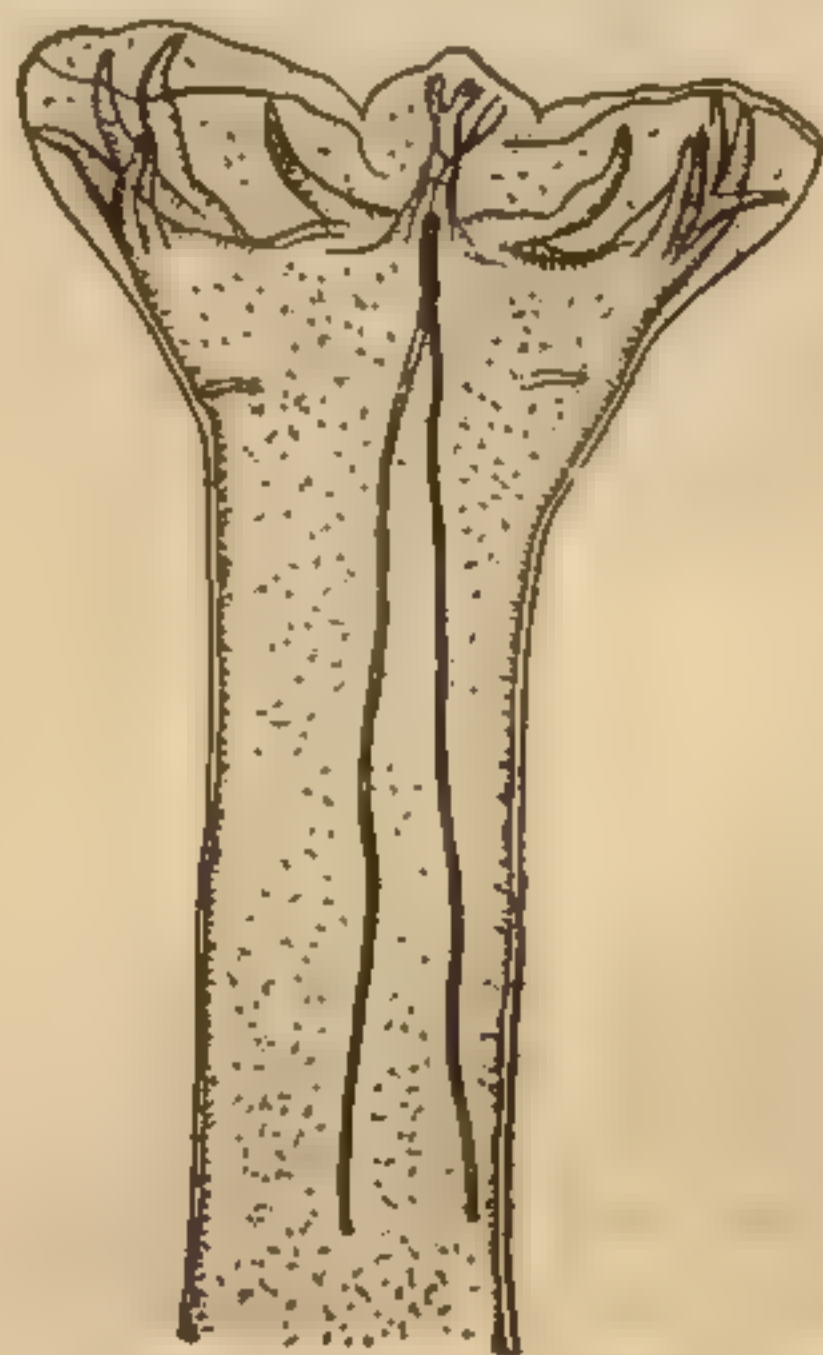


Рис. 296. Анкилостома двенадцатиперстная — *Ancylostoma duodenale*. Хвостовой конец самца (по Скрабину и Шульцу).



Рис. 297. Анкилостома двенадцатиперстная — *Ancylostoma duodenale*. Яйцо в испражнениях человека. Увеличение в 550 раз.

рованными и выносятся во внешнюю среду с каловыми массами. Дозревание их во внешней среде происходит медленно: оно длится от 14 дней до нескольких месяцев, в зависимости от температуры. Созревшее инвазионное яйцо, проглоченное человеком или животным с загрязненной пищей или водой, раскрывается, и из него выходит личинка, которая, не проделывая миграции, фиксируется на слизистой кишечника. Зрелый паразит в большинстве случаев внедряется головным концом в слизистую оболочку то менее, то более глубоко и тем самым может вызывать нарушение целостности кишечной стенки. Вследствие прочного прикрепления к кишечной стенке, он не выделяется с испражнениями. По этой же причине изгнание паразита до недавнего времени считалось невозможным. Власоглав достигает половозрелости приблизительно через месяц и живет, вероятно, несколько лет.

Мечников один из первых указал, что власоглав может играть видную роль в происхождении аппендицитов: внедряясь передней частью в слизистую оболочку червеобразного отростка, он прививает сюда те микро-



организмы, которыми он покрыт, и тем самым вызывает в отростке воспалительную реакцию. Работами последующих авторов взгляд Мечникова был подтвержден.

Власоглав наносит также вред выделяемым им токсином. Интоксикацией объясняется ряд расстройств со стороны желудочно-кишечного тракта, крови и нервной системы, которые, в зависимости от числа паразитов, могут быть то более, то менее тяжелыми.

Нередко встречаются и паразитоносители, у которых присутствие паразитов никакими болезненными явлениями не сказывается.

г) *Thominox aerophilus*, s. *Eucoleus aerophilus*<sup>1</sup>, — паразит, близко стоящий к семейству трихоцефалид, паразитирующий в легких. Описание — см. «Мокрота», стр. 289.

д) *Ancylostoma duodenale* — анкилостома, кривоголовка двенадцатиперстная (рис. 295, 296 и 297). Головная часть паразита искривлена на спинную сторону, отсюда и название «кривоголовка». Длина самки 10—13 мм, толщина 0,6 мм; длина самца 8—10 мм, толщина 0,4—0,5 мм. Самцы напоминают белую нить; самки неуклюжи, буроватого цвета от переполнения всосанной кровью. При микроскопическом исследовании видно, что ротовое отверстие переходит в ротовую капсулу, которая вооружена тремя парами блестящих хитиновых зубцов; две пары лежат вентрально, одна — дорзально.

Пищевод занимает приблизительно  $\frac{1}{5}$  тела. Он впадает в кишку, которая заканчивается у самки анальным отверстием, чуть отступя от заднего конца тела, у самца — вместе с половым отверстием в бурсу. Последняя имеет вид трехдольчатого мешка, снабжена двумя короткими спикулами и рульком. У самки хвостовой конец несколько заострен и имеет маленький острый втяжной штифтик. Матки парные. Вульва лежит на границе передней и средней трети тела.

Яйца овальной формы, длиной 50—60  $\mu$ , шириной 30—40  $\mu$ ; окружены тонкой прозрачной оболочкой. Зародыш почти всегда находится в стадии дробления, т. е. содержит 2—4 сегментированных шара (реже 8). Диагноз ставится на основании нахождения яиц.

Жизненный цикл. Анкилостома развивается без промежуточного хозяина. Яйца, откладываемые самкой анкилостомы в кишечнике, попадают с калом во внешнюю среду, инфицируя почву. При достаточном тепле (25—30°) и влаге из них быстро (через 1—2 суток) освобождаются личинки. Личинки некоторое время продолжают жить в верхних слоях почвы и прodelывают дальнейшее развитие. При выходе из яйца они имеют так называемую рабдитную форму, т. е. пищевод личинки состоит из двух частей: одной более или менее цилиндрической и второй шаровидно вздутой. Примерно через 3 суток личинки сбрасывают оболочку, сохраняя рабдитную форму. К концу 5-го дня личинки принимают филариевидную форму. Последняя форма инвазионна, т. е. способна заражать человека. В ротовой полости личинки имеется копьевидный аппарат, который дает ей возможность вбуравливаться в неповрежденную кожу.

Заражение человека происходит главным образом вследствие активного внедрения личинок в кожные покровы. Попав в лимфатические или кровеносные сосуды, личинки прodelывают сложную миграцию (см. стр. 597). На развитие личинки в половозрелую форму в теле человека требуется 4—6 недель.

Второй путь заражения человека — проглатывание инвазионных личи-

<sup>1</sup> Альперович Б. Д., Сборник XX лет работы Лечсанупра Кремля, 1939, стр. 62



нок с водой. Большая часть личинок при этом способе заражения развивается без миграции.

**Патогенное значение.** Зрелые анкилостомы паразитируют в верхнем отделе тонких кишок. Они присасываются к слизистой оболочке кишки. Слизистая кишечной стенки всасывается в ротовую полость паразита, целостность ее нарушается, что может сопровождаться разрывом сосудов и вызывать геморрагии. Наряду с механическим моментом, имеется налицо и токсический: голодные и шейные железы паразита выделяют токсин, всасываемый кишечной стенкой хозяина и препятствующий свертыванию крови.

Общие симптомы анкилостомоза следующие: со стороны пищеварительного тракта боль подложечкой, извращение вкуса, поносы, иногда с примесью крови в кале; со стороны крови анемия, более или менее резко



Рис. 298. Некатор — *Necator americanus*. Головной конец.



Рис. 299. Семейство трихостронгилид — *Trichostrongylidae*. Яйца в начальной стадии развития. Увеличение в 550 раз.

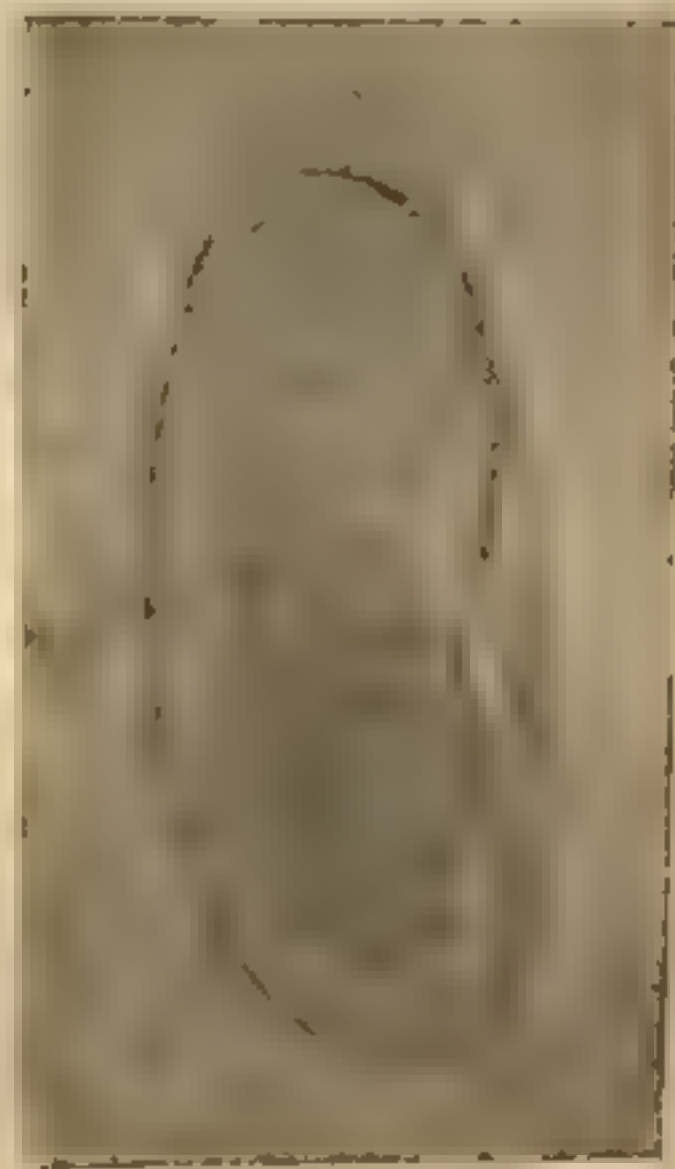


Рис. 300. Трихостронгилиды — *Trichostrongylidae*. Начало формирования личинки в яйце. Увеличение в 550 раз.

выраженная, эозинофилия, достигающая 50—70%; со стороны нервной системы головные боли, ослабление памяти, понижение умственной способности.

Могут наблюдаться также кожные явления на месте внедрения (зуд, жжение, дерматит) и явления со стороны дыхательных путей во время миграции. Тяжесть клинической картины зависит главным образом от массивности инвазии. Число паразитов у человека колеблется от единичных экземпляров до 1000—3000.

Считается, что почти  $\frac{1}{4}$  населения всего земного шара заражена анкилостоматидами. В СССР анкилостомоз встречается в Абхазии, Азербайджане, Грузии и в других южных районах.

е) *Necator americanus* — некатор (рис. 298). Паразит имеет очень большое сходство с анкилостомой, отличаясь несколько меньшими размерами (самка длиной 9—11 мм, самец 7—9 мм), а также тем, что он не имеет зубцов у ротового отверстия и что половое отверстие у самки



ближе к головному концу, тогда как у анкилостомы оно ближе к хвостовому.

Яйца обоих паразитов настолько похожи, что практически различить их невозможно. Дифференцирование анкилостомы от некоего возможно только по зрелым паразитам после их изгнания.

Патогенное действие некоего и способ заражения аналогичны таковым у анкилостомы.

ж) *Trichostrongylidae* — трихостронгилиды (рис. 299 и 300). У человека встречается несколько видов этого семейства. Яйца

отдельных видов настолько сходны, что распознавание по ним невозможно; поэтому при исследовании приходится ограничиваться указанием на наличие яиц из семейства трихостронгилид. Определение производится по зрелым формам после их изгнания из тела хозяина. Зрелые паразиты отличаются друг от друга главным образом строением половых органов.

Паразиты имеют нитевидное тело, суживающееся к головному концу; длина самца 4—5,5 мм, самки 5—6,5 мм. У самца на хвостовом конце совокупительная сумка с двумя боковыми лопастями. Спиккулы различной формы: либо длинные, нитевидные, либо короткие, утолщенные. Половые органы самки парные. Рот окружен тремя губами.

Яйца отдельных видов отличаются только различной длиной и шириной, причем колебания размеров не велики. Яйца очень похожи на яйца анкилостомы, снабжены тонкой бесцветной оболочкой с гладкой поверхностью, как последние, но в отличие от нее содержат значительно большее число шаров дробления. При стоянии фекалий число шаров увеличивается, и иногда из яиц освобождаются личинки. Яйца выбрасываются с калом наружу и вне тела хозяина превращаются в рабдитную личинку, которая за 6 дней превращается в филариовидную. Паразит развивается без промежуточного хозяина. Попадая в хозяина, личинки развиваются в половозрелую форму без миграции.



Рис. 301. Угрица кишечная — *Strongyloides stercoralis*. Личинка рабдитная.

Рис. 302. Угрица кишечная — *Strongyloides stercoralis*. Личинка филариовидная.

Заражение человека происходит чаще всего per os, значительно реже через кожу.

Патогенное значение изучено мало. Имеются указания, что при слабой инвазии клинические явления незначительны или отсутствуют, при массивной могут быть тяжелыми, сходными с явлениями при анкилостомозе.

Обследованиями последнего времени выяснено, что трихостронгилоидоз довольно широко распространен у человека.

з) *Strongyloides stercoralis*, s. *Anguillula stercoralis*, — угрица кишечная (рис. 301 и 302). В противоположность другим



глистным инвазиям, с фекалиями выделяются не яйца, а личинки. Свеже-выделившиеся личинки типичной рабдитной формы (см. стр. 596), т. е. снабжены пищеводом с двумя расширениями: первое находится в конце передней цилиндрической части пищевода, второе расширение (так называемый бульбус) представляет заднюю расширенную часть пищевода



Рис. 303. Трихинелла — *Trichinella spiralis*. Самка и самец. Увеличение в 30 раз.

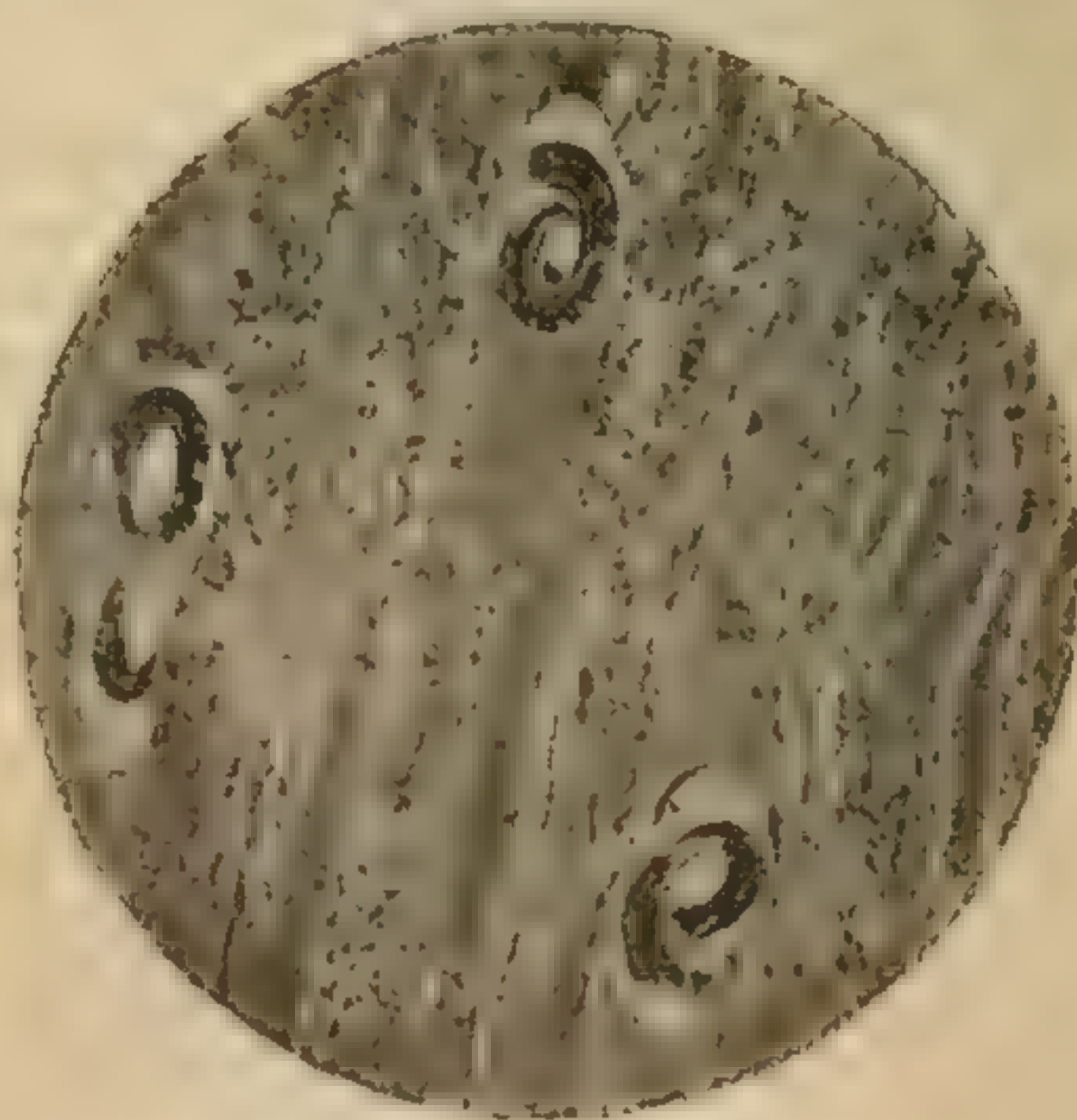


Рис. 304. Трихинелла — *Trichinella spiralis*. Личинка в мышцах. Увеличение в 65 раз.

в виде грушевидного вздутия. Между двумя расширениями имеется перетяжка. Личинки очень мелкие (длина их около 0,35 мм), оживленно подвижны. Яйца и зрелые паразиты в фекалиях не встречаются. Зрелый паразит — самка едва заметен простым глазом: длина его 2,2 мм, ширина 0,034 мм. Тело несколько сужено в передней части. Рот окружен тремя маленькими губами и переходит в прямой пищевод, который занимает  $\frac{1}{3}$

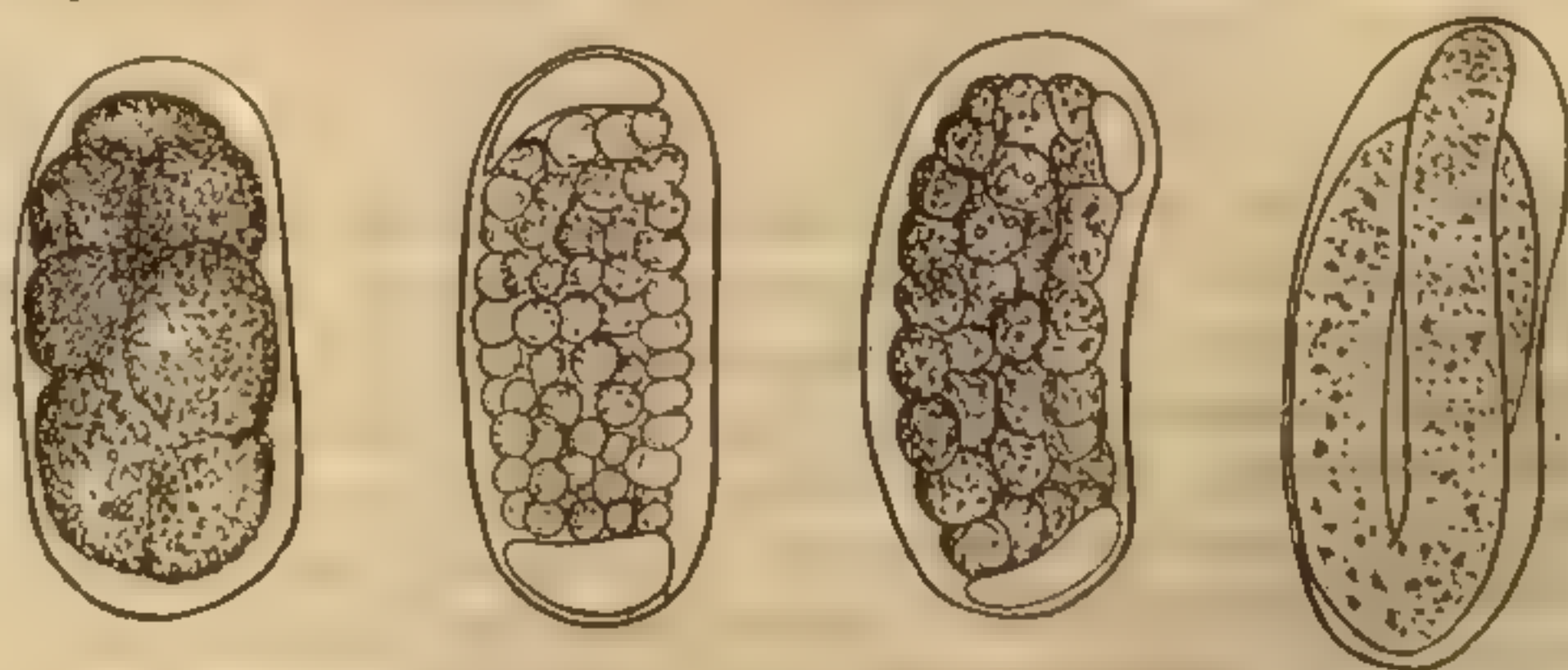


Рис. 305. *Heterodera marioni*. Яйца на разных стадиях развития.

или  $\frac{2}{5}$  длины тела. Анальное отверстие на коротком расстоянии от заднего конца. Вульва открывается близ середины тела. Из парных маток одна направлена кпереди, другая — кзади от вульвы.

Жизненный цикл паразита очень сложен. Он характеризуется сменой свободно живущих и паразитических поколений. Заражение человека происходит путем внедрения личинок в кожу, реже при проникновении в ротовую полость. После сложной миграции происходит копуляция самцов и самок. Оплодотворенная самка внедряется в толщу



кишечной стенки и здесь откладывает яйца, из которых уже через несколько часов выходят личинки. Наиболее частая локализация паразита — двенадцатиперстная кишка и верхний отдел тонких кишок.

Патогенное значение. Так как заражение происходит преимущественно через почву, то оно может носить характер профессионального заболевания шахтеров, землекопов; оно может наблюдаться и во время военных действий в окопах. Внедрение личинок в кожу может вызывать дерматит. После обоснования паразита в кишечнике — поносы, иногда с примесью крови, а также ряд нервных явлений. Кроме того, описаны случаи пернициозной анемии, а также значительной эозинофилии.

и) *Trichinella spiralis* — трихинелла (три ина) (рис. 303 и 304). Очень мелкий паразит, едва видимый простым глазом. Самец 1,4—1,6 мм длины и 0,04 мм ширины,

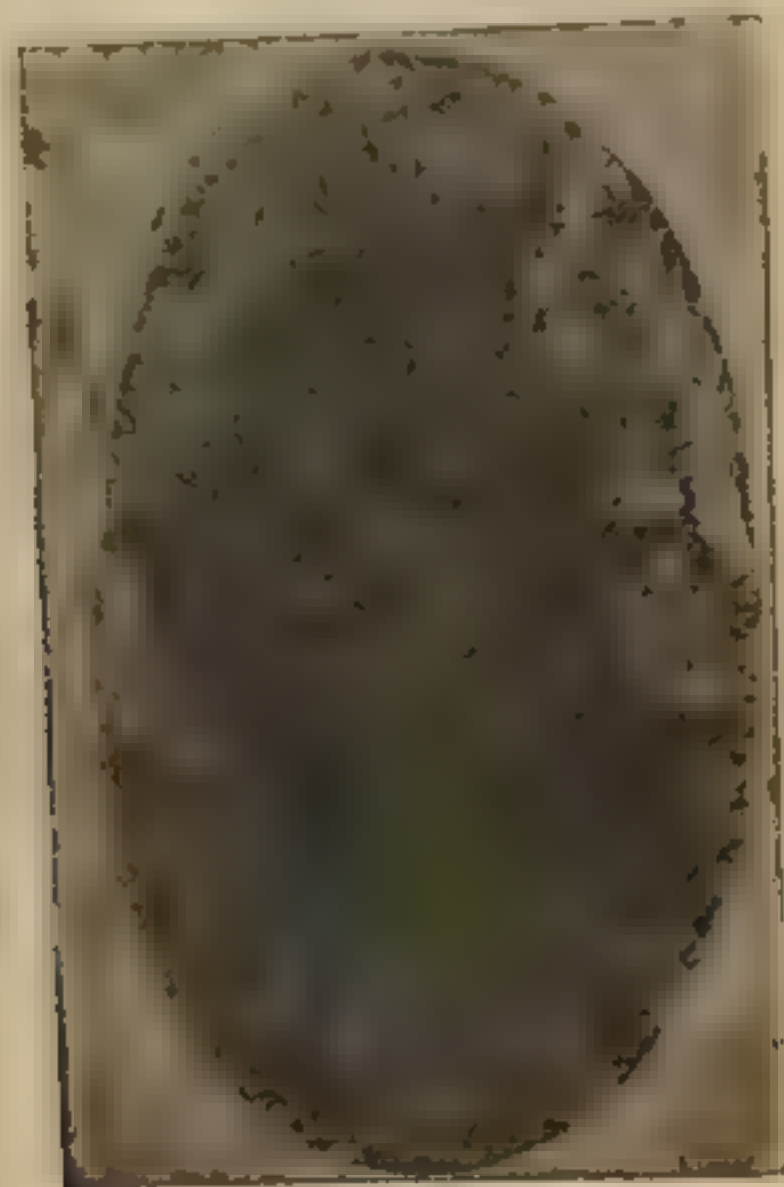


Рис. 306. Личинка мухи.



Рис. 307. Яйцо клеща в испражнениях человека. Увеличение в 550 раз.

Рис. 308. Споры грибов и растений, сходных с яйцами глистов.

самка 3—4 мм длины и 0,06 мм ширины. Тело паразита равномерно суживается кпереди. Из ротовой полости торчит стилет. Пищеварительный канал открывается на заднем конце тела заднепроходным отверстием. Половые органы у самки одиночные, состоящие из яичника, который лежит в задней половине тела; кпереди от него короткий яйцепровод и широкая матка; отверстие вульвы значительно ближе к головному концу.

Трихинелла принадлежит к живородящим паразитам. Как и все круглые черви, она проделывает две стадии развития — личиночную и половозрелую. Личинки трихинеллы локализуются в мышечной ткани, зрелые паразиты — в кишечнике. Хозяева трихинеллы — человек, свинья, крыса, кошка, собака и другие млекопитающие.

Жизненный цикл. Половозрелые особи живут в тонких кишках короткое время, копулируют; после этого самцы погибают, а самки проникают в луберкюновы железы, внедряются в подслизистую оболочку кишки, далее в лимфатические железы и сосуды. Здесь примерно через 8 недель они рожают массу мелких личинок (каждая самка родит их около 1500). Личинки с током лимфы и крови разносятся по телу и внедряются в поперечнополосатые мышцы. Проникнув под сарколемму мышечного волокна, личинка сначала сгибается вдвое, потом скручивается спирально.



Вокруг нее образуется соединительнотканная капсула, в которой затем отлагаются известковые соли. Капсула образуется через 6—9 месяцев после заражения. Вследствие образования капсулы, представляющей реакцию мышечной ткани на их внедрение, личинки оказываются замурованными, и процесс их развития приостанавливается. В таком инкапсулированном состоянии они могут сохранять жизнеспособность много лет. Таким образом, личинки и зрелые паразиты трихинеллы живут в одном и том же хозяине.

Заражение человека происходит при употреблении свиного мяса, содержащего личинки трихинелл. Известковая капсула, окружающая личинок, растворяется в желудке; в двенадцатиперстной кишке личинки эксцистируются и быстро, уже к концу вторых суток, превращаются в зрелых паразитов.

Распознавание и патогенное действие. Трихинеллез принадлежит к тем болезням, диагностика которых представляет большие трудности. Исследование каловых масс, на основании которого ставится диагноз других глистных заболеваний, здесь редко дает нужный результат. Можно пытаться на известных стадиях болезни отыскать в кале отходящих самцов и самок, однако эти попытки редко увенчиваются успехом.

Так как личинки переносятся в различные части тела через кровь, то было предложено отыскивать их на препаратах крови. С этой целью берут несколько кубических сантиметров крови из вены, смешивают с десятикратным объемом 3% раствора уксусной кислоты, для растворения эритроцитов, центрифугируют и осадок исследуют под микроскопом. Более надежным является исследование биопсированных участков мышц, лучше всего двуглавой и дельтовидной. Наряду с исследованием больного, во всех подозрительных случаях необходимо также исследовать остатки мяса, употребленного в пищу больным. С этого исследования и нужно начинать, так как оно сразу может выявить причину заболевания.

В сравнительно недавнее время предложена кожная реакция для распознавания болезни. Она дает у трихинеллезных положительный результат в большей половине случаев и строго специфична (см. стр. 762).

Клинически характерно острое начало с высокой температурой, отеком глазных век и лица в первую неделю болезни, ригидность мышц, тифозное состояние с ремиттирующей лихорадкой, ночными потами и общей слабостью. В крови резкая эозинофилия — от 20—30 до 80% и выше. В тяжелых случаях эозинофилии может не быть. Выздоровление медленное. Тяжесть заболевания в известной мере связана с количеством проглоченных капсул. Имеются указания, что тяжелое заболевание наблюдается, если проглочено не менее 100 000 капсул, для чего иногда достаточно съесть 10—20 г свинины.

Трихинеллез у людей наблюдается чаще в местностях, в которых нет ветеринарного контроля и где широко употребляется в пищу сырая или полусырая свинина. Клинически болезнь часто остается нераспознанной, что затрудняет собирание статистических сведений. Судя по данным отдельных авторов, болезнь поражает значительную часть населения (17—20%).

к) *Heterodera marioni* — гетеродера Мариони (рис. 305). Мелкая нематода, паразитирующая на корнеплодах; встречается у человека лишь в качестве транзитной глисты. На корнеплодах паразит и его яйца могут встречаться в большом количестве. У человека впервые нематода была найдена в США, но в последние годы была также обнаружена и в различных районах СССР. В испражнениях человека находили только яйца, а паразит ни разу не был найден.



Яйца чаще встречаются весной, летом и осенью. По строению они очень напоминают яйца трихостронгилд, но отличаются от последних своей бобовидной формой. Размеры яиц:  $65-133 \times 33-43$  мм. В фекалиях они иногда слегка деформированы (влияние термической обработки



Рис. 309. Сводная таблица яиц глистов, показывающая различные размеры яиц отдельных видов.

1 — цепень вооруженный; 2 — цепень невооруженный; 3 — цепень тыквовидный; 4 — цепень карликовый; 5 — цепень крысиный; 6 — лентец широкий; 7 — двуустка печеночная; 8 — двуустка ланцетовидная; 9 — двуустка китайская; 10, 11, 12 — аскарида; 13 — острица; 14 — анкилостома; 15 — власоглав. Увеличение в 400 раз. Схематический рисунок.

пищи); при этом на полюсах между внутренним содержимым и оболочкой наблюдаются более или менее прозрачные образования неправильной формы.

7) Личинки мух, яйца клещей и растительные клетки, симулирующие гельминты и их яйца (рис. 306, 307 и 308). Нужно еще упомянуть о личинках мух и о клещах, которые иногда встречаются в кале. Личинки мух могут дать повод к смешению с мелкими червями, например, острицами. Обычно это личинки из яиц, откладываемых мухами на выделившийся кал. Личинки мух легко распознать. Они имеют вид очень мелких, но видных простым глазом подвижных червячков беловато-сероватого или желтоватого цвета (рис. 306). Тело их разделено на 11—12 сегментов. Головной конец заострен и снабжен крупнозубчатым хитиновым аппаратом.

Что касается встречающихся в кале клещей, то они относятся к тому же подотряду, что и чесоточный клещ. Эти клещи — мучной, сырный



и др. — паразитируют в муке, зерне, фруктах, сене и в других продуктах. При известных условиях они могут размножаться в пищевых продуктах в несметных количествах и лишать пищу ее питательных свойств. В единичных экземплярах они могут встречаться и в доброкачественных продуктах и вместе с ними проникать в пищеварительный канал человека. В желудке человека они обычно погибают и обнаруживаются как случайная находка при просмотре микроскопического препарата кала. Если их много, то они могут быть причиной различных расстройств. Строение их сходно со строением чесоточного клеща (рис. 206), но размеры значительно больше.

Яйца этих клещей (рис. 307) крупные:  $107 - 123 \times 68 \mu$ , овальной формы светложелтого цвета. Внутреннее содержимое может представлять различные стадии развития яйца от начальных стадий дробления до сформировавшегося зародыша. Под влиянием обработки кала содержимое яйца нередко отстает от его оболочки.

Из растительных клеток, встречающихся в кале и до известной степени сходных с яйцами глистов и поэтому нередко ошибочно за них принимаемых, следует отметить споры сморчка, напоминающие яйца власоглава, споры подберезовика, сходные с яйцами острицы, и очень мелкие споры различных растений круглой формы темнокоричневого цвета, напоминающие яйца ленточных глистов. Однако все эти споры (рис. 308) значительно мельче.

Приводим сводную таблицу яиц глистов, данных в одном и том же масштабе (рис. 309).

## ГЛАВА ДЕВЯТАЯ

### БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Кишечник человека при нормальных и патологических состояниях содержит в себе огромное количество всевозможных микроорганизмов, которые составляют по весу от  $\frac{1}{8}$  до  $\frac{1}{4}$  всего веса свежего кала.

1) **Кал новорожденного.** Микроорганизмы появляются в кале новорожденного уже через несколько часов после рождения (обычно во втором и третьем меконии) и к концу первого дня жизни количество их быстро нарастает. В это время мы находим дрожжевые грибки, кокки и большое количество спороносных палочек. При кормлении грудью на второй день появляются длинные заостренные грамположительные палочки — *B. bifidus*, которые постепенно вытесняют все остальные виды; они составляют физиологическую флору кала грудного ребенка. При вскармливании коровьим молоком флора далеко не так однородна, причем в ней преобладают грамотрицательные микроорганизмы.

2) **Кал взрослого.** В кале взрослого в норме имеется громадная масса видов микробов, причем бактериоскопическое исследование имеет сравнительно небольшое диагностическое значение. Громадное большинство микроорганизмов, населяющее кишечник, можно объединить в три большие группы: 1) грамотрицательные бациллы, относящиеся к группе кишечной палочки, 2) анаэробы спороносные и неспороносные, 3) грамположительные кокки — стрептококки (энтерококк), диплококки и т. д.

В общем можно сказать, что в норме у взрослого преобладает грамотрицательная флора, главную массу которой составляет кишечная палочка. Некоторое влияние на флору имеет пищевой режим, — при обильной молочной и углеводной пище появляются грамположительные,



частью спороносные палочки (*B. subtilis*, *Clostridium butyricum*); при исключительном питании фруктами сильно уменьшается количество кишечных палочек.

Для изучения отдельных видов пользуются: 1) фиксированными и окрашенными мазками (лучше всего окрашивать мазки по Граму), 2) нативными препаратами, позволяющими наблюдать подвижность, 3) посевом на питательные среды. Последний способ играет первенствующую роль (см. отдел X).

3) **Иодофильная флора** (рис. 232). Кроме того, специальный интерес представляет исследование свежего препарата, окрашенного раствором Люголя. Препарат готовят обычным способом и рассматривают с сухой системой. При такой обработке в некоторых бактериях видны зерна, окрашенные иодом в фиолетовый цвет, или даже все тело отдельных бактерий представляется фиолетовым. Вещество, окрашивающееся иодом, носит название гранулезы и представляет собой крахмал и продукты его ассимиляции; флора, воспринимающая окраску, называется иодофильной. Реакция на гранулезу неспецифична для определенного вида бактерий и не может служить для их распознавания. Однако все же можно считать установленным, что этим свойством обладают преимущественно микроорганизмы, являющиеся возбудителями процессов брожения. Появление иодофильной флоры в кале имеет определенное диагностическое значение: она встречается при недостаточном усвоении углеводов, иногда являясь даже единственным признаком такового, и как правило, — лишь при кислой или амфотерной реакции кала, тогда как при слабо щелочной реакции обнаруживается очень редко.

4) **Плесневые и дрожжевые грибки**. Первые встречаются в испражнениях очень редко, вторые — значительно чаще; в большом количестве они встречаются у детей, если их испражнения имеют кислую реакцию. Грибки большей частью бывают овальной, нередко круглой формы, лежат группами по 3—4; часто видны характерные для них формы почкования. При обработке препарата иодом они окрашиваются в желтоватый цвет (см. отдел VI).

5) **Кишечная палочка** (*Bac. coli commune*), как уже было упомянуто, представляет нормального обитателя толстых кишок. Ее морфология и биологические свойства — см. отдел X.

6) **Туберкулезная палочка**. Исследование каловых масс на присутствие туберкулезных палочек обыкновенно производится в том случае, когда подозреваются туберкулезные язвы в кишках. Методика исследования та же самая, что и при исследовании мокроты, т. е. выбирают слизистые или слизисто-гнойные комочки (если их нет, то берут просто несколько мельчайших частиц кала), размазывают их на предметном стекле, фиксируют и окрашивают, как обычно, карболовым фуксином Циля и обесцвечивают 3% солянокислым спиртом.

Различные способы обогащения, в частности, и метод флотации при исследовании кала на присутствие туберкулезных палочек себя не оправдали.

Больные легочным туберкулезом часто проглатывают мокроту, поэтому положительный результат у них нужно оценивать с большой осторожностью.



# ОТДЕЛ ВОСЬМОЙ

## ИССЛЕДОВАНИЯ ЭКССУДАТОВ, ТРАНССУДАТОВ И ЖИДКОСТЕЙ МЕШЕЧЧАТЫХ ОПУХОЛЕЙ (КИСТ)

### ГЛАВА ПЕРВАЯ

#### ЭКССУДАТЫ И ТРАНССУДАТЫ

Все жидкости, добываемые пробной пункцией или разрезом, делят на три группы: а) жидкости воспалительного происхождения — экссудаты; б) жидкости механического происхождения при расстройствах общего и местного кровообращения — транссудаты; в) кисты ретенционные, паразитарные и др.

Экссудаты в свою очередь делятся на: 1) серозные, 2) серозно-гнойные, 3) гнойные, 4) гнилостные, 5) геморрагические и 6) молочновидные.

Отличительные свойства транссудатов и экссудатов представлены в табл. 52.

Таблица 52

	Транссудаты	Экссудаты
Удельный вес	1,006—1,015 (в среднем около 1,013). Транссудаты при опухолях — 1,018—1,025	Свыше 1,018, в среднем около 1,022
Свертывание	Обычно отсутствует	Обычно происходит
Белок	Реакция Ривальта обычно отрицательная, содержание белка меньше 3%	Реакция Ривальта положительная, содержание белка больше 3%
Цитология	Мезотелиальные клетки и эритроциты, иногда доминируют лимфоциты, после повторных проколов — эозинофилы	В острых инфекциях полинуклеарные нейтрофилы, в хронических — малые лимфоциты. Эозинофилы после повторных проколов, при искусственном пневмотораксе, специфическом эозинофильном плеврите и при гемотораксе в стадии резорбции. Эритроциты
Бактериология	Обычно стерильны. Как посторонняя примесь белый стафилококк из кожи	В мазках и посевах — пневмококк, стрептококк и т. д. Туберкулезные бактерии при посеве на специальные среды и инокуляции морской свинке
Реакция связывания комплемента	Положительный результат при сифилисе	Положительный результат при туберкулезе, эхинококкозе, гоноррее



Жидкость, предназначенная для исследования, должна быть собрана в сухой, чистой, стерильной посуде.

Экссудаты и транссудаты могут скопляться в различных полостях тела, но чаще всего приходится иметь дело со скоплениями жидкостей в полости плевры (hydrothorax) и брюшины (ascites).

## ОБЩИЕ СВОЙСТВА

Цвет и прозрачность. Транссудаты и серозные экссудаты обычно имеют вид почти совершенно прозрачных жидкостей лимонножелтого цвета. Все остальные виды экссудатов мутны, цвет их различен, в зависимости от характера (см. ниже «Дифференциальная характеристика экссудатов»).

Удельный вес обычно определяется урومتром малого размера. Удельный вес транссудатов колеблется от 1,002 до 1,018, удельный вес экссудатов выше 1,018.

Удельный вес транссудатов из различных полостей неодинаков; в плевральном экссудате он колеблется от 1,008 до 1,015, в асцитической жидкости он обычно ниже, около 1,012, в жидкостях из черепной полости (hydrocephalus) — около 1,008.

## ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

1) Белок. Определяется по способу Брандберга (см. «Моча»). Соответственно большему содержанию белка приходится делать большие разведения. Для разведения желательно пользоваться физиологическим раствором. Обычно готовят основное разведение 1:100 (что соответствует содержанию белка 0,3%). Если это разведение дает тотчас ясное кольцо, то разводят его в 10 раз и получают разведение 1:1000, соответствующее содержанию белка 3%. При положительном результате пробы Гелера с этим разведением в дальнейшем исходят из него, а при отрицательном — из разведения 1:100. Содержание белка выражают в процентах в отличие от мочи, содержание белка в которой выражают в pro mille.

Содержание белка в транссудатах колеблется от 0,05 до 2,5%; в экссудатах количество белка больше 3%; в среднем содержание белка в экссудатах в 3 раза выше, чем в транссудатах.

Соотношение между альбуминами и глобулинами в транссудатах и экссудатах неодинаково. Отношение глобулинов к альбуминам в транссудатах 1:2,5 — 1:4, в экссудатах 1:0,5 — 1:2.

Способ определения альбуминов и глобулинов — см. «Биохимическое исследование крови».

Согласно сказанному, экссудаты и транссудаты дифференцируются главным образом по удельному весу и содержанию белка, но на практике приходится встречать ряд переходных жидкостей, а также жидкостей воспалительных, которые по содержанию белка и удельному весу близко стоят к транссудатам. Так, Шмелев и Вольфсон наблюдали ряд случаев плеврального экссудата туберкулезной этиологии, в которых содержание белка не превышало 2,5%.

Для дифференцирования транссудатов от экссудатов предложены далее следующие реакции.

2) Реакция Ривальта. В коническом сосуде или цилиндре приготовляют очень слабый раствор уксусной кислоты (2 капли ледяной уксусной



кислоты на 200 см<sup>3</sup> воды) и опускают в него каплю исследуемой жидкости. Падающая капля экссудата тотчас образует помутнение, наподобие струйки дыма от сигары. Капля транссудата не образует помутнения или же оно бывает лишь незначительным и появляется не сразу. Причина реакции — содержание муциноподобного вещества, называемого серозомуцином.

**3) Реакция Соханского.** В основе ее лежит различная щелочность транссудатов и экссудатов: берут 10 см<sup>3</sup> испытуемой жидкости и 40 см<sup>3</sup> воды, прибавляют 2 капли 1% спиртового раствора фенолфталеина и титруют n/10 раствором NaOH. В транссудатах покраснение наступает при прибавлении 0,1—0,4 см<sup>3</sup> раствора щелочи; в экссудатах количество прибавленного NaOH превышает 0,5 см<sup>3</sup>.

## ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Клеточные элементы изучают на свежих и на окрашенных препаратах. Изучению свежих препаратов должно быть уделено особое внимание, так как оно позволяет просмотреть большее количество материала и нередко также лучше выявляет взаимное расположение клеток и даже детали их строения.

**1) Приготовление препаратов.** Добытую для исследования жидкость тотчас же после пункции наливают в стерильную центрифужку и центрифугируют. Жидкость сливают и из осадка, захватив его пипеткой, готовят препараты. Препарат бывает отчетливее, если его предварительно отмыть от белка, слив с него жидкость и процентрифугировав его вторично с небольшим количеством физиологического раствора.

Можно также после центрифугирования слить плазму, а на осадок налить около 10 см<sup>3</sup> 2% водного формалина и снова центрифугировать. Отсасывают формалин и прибавляют 1 см<sup>3</sup> краски Романовского-Гимза и 1 см<sup>3</sup> воды; размешивают осадок и через 5 минут смотрят под микроскопом.

Если центрифугирование нельзя произвести тотчас же после пункции, то перед центрифугированием рекомендуется дефибринировать жидкость. Для этого наливают ее в склянку с толстыми стенками, содержащую стеклянные шарики, и взбалтывают в течение 1/4—1 часа, пока не перестанут выпадать клочья фибрина. Затем жидкость сливают в пробирки и центрифугируют. К дефибринованию прибегают также в тех случаях, когда для исследования берется жидкость, уже постоявшая и свернувшаяся. Путем взбалтывания со стеклянными шариками удается разбить свертки фибрина и освободить заключающиеся в них форменные элементы, но при этом много клеток остается в сгустках фибрина и, кроме того, часто страдает форма клеток. Взамен дефибринования лучше прибавить к жидкости, пока она еще не свернулась, немного 5% раствора лимоннокислого натрия (1 часть на 4 части жидкости); однако при этом нужно принимать во внимание, что лимоннокислый натрий влияет на морфологию нейтрофилов.

Свежие препараты рассматривают без окраски или же слегка подкрасив 1% водным раствором метиленовой синьки (краску подпускают под покрывное стекло так, чтобы она проникла в силу капиллярности).

По Шмелеву, для дифференцирования клеточных элементов наилучшим способом витальной окраски является способ Себина. Техника его следующая. Берут 0,2% нейтральную красную (neutralrot) в 96° спирту и 0,2% янусовую зеленую (janusgrün) в 96° спирту. Перед употреблением краски смешивают — 0,5 см<sup>3</sup> нейтральной красной с 0,2 см<sup>3</sup> янусовой зеленой. Тщательно вымытые предметные стекла после легкого нагрева



ния покрывают тонким слоем красочной смеси при помощи шлифованного стекла. Стекла в темноте могут долго сохраняться. Главной краской является нейтральная красная; за неимением янусовой зелени можно дифференцировать клетки, применяя одну эту краску.

Маленькую каплю исследуемой жидкости наносят на окрашенное предметное стекло и покрывают покровным. Чтобы не травмировать клетки, покровное стекло лучше не надавливать, а небольшим смещением его заставить жидкость распределиться между стеклами тонким слоем. После этого обводят покровное стекло парафином, чтобы предохранить жидкость от высыхания, и кладут препарат на 5 минут в термостат или на нагревательный столик. Препараты исследуются с иммерсионной системой.

Дифференцирование клеток при этой окраске представляет известные трудности и требует навыка. Однако, по наблюдениям Шмелева, оно дает наиболее полноценный результат.

Сухие препараты готовят так же, как препараты крови, т. е. высушивают на воздухе, фиксируют алкоголем и окрашивают азур-эозином или по Романовскому-Гимза. Красить препараты нужно очень недолго, так как они быстро перекрашиваются. Окрашенные препараты исследуют с сильной сухой и иммерсионной системой. Способ исследования при подозрении на злокачественное новообразование см. отдел IX.

2) **Клеточные элементы, встречающиеся в пунктатах.** а) Лейкоциты (рис. 310) являются главной составной частью клеточных элементов, содержащихся в пунктатах. Здесь могут встречаться все те же виды лейкоцитов, что и в периферической крови. Лимфоциты, эозинофилы и моноциты по морфологии от лейкоцитов крови не отличаются вовсе или отличаются мало; нейтрофилы же, как менее стойкие элементы, часто бывают дегенерированными; они могут представлять те же три стадии дегенерации, о которых упоминалось при описании мокроты (см. «Мокрота», стр. 280). Нейтрофилы обычно встречаются в остром периоде болезни.

б) Помимо лейкоцитов, в пунктатах могут встречаться клетки мезотелия, представляющие собой довольно крупные клетки. Они содержат обычно одно, реже 2—3 ядра. Ядро овальной или круглой формы расположено центрально или эксцентрически. Протоплазма при окраске азур-эозином резко базофильна, никаких включений не содержит. Единичные клетки мезотелия встречаются в пунктатах часто и не имеют диагностического значения. В больших количествах они обычно наблюдаются в транссудатах и экссудатах при наличии злокачественных новообразований (Ксендзов)<sup>1</sup>.

в) **Макрофаги** — крупные клетки с вакуолизированной протоплазмой и обычно изогнутым, вытянутым ядром, довольно богатым хроматином. Протоплазма их нередко содержит фагоцитированные эритроциты, цельные лейкоциты или их обломки. Между клетками мезотелия и макрофагами наблюдаются различные переходные формы.

Макрофаги встречаются при кровоизлияниях в плевральную полость, в гнойных туберкулезных экссудатах, в опухолевых экссудатах.

г) **Гигантские клетки** с 2—4 ядрами, частью в стадии митотического и амитотического деления. Ядра круглые, хроматин разрежен, протоплазма часто вакуолизирована. Встречаются при туберкулезном перитоните с длительным течением. Они могут быть одиночными или собранными в кучки. От опухолевых клеток отличаются тем, что форма их всегда круглая.

<sup>1</sup> Ксендзов Е. М., Цитология и цитодиагностика плевральных экссудатов Минск, 1941.



д) Опухолевые клетки — большие, иногда гигантские клетки неправильной формы (см. также отдел IX).

е) Жировые шары (см. «Мокрота», стр. 283) встречаются в экссудатах раковой этиологии.

При туберкулезном плеврите Шмелев и Вольфсон<sup>1</sup> различают следующие типы экссудатов.

1. Эозинофильный тип, в котором эозинофилы составляют главную массу клеток (до 88%).

2. Эозинофильно-лимфоцитарный тип, где, наряду с эозинофилами, имеются лимфоциты, а также обычно небольшое количество моноцитов, базофилов и нейтрофилов.

Эозинофильный и лимфоцитарный тип наблюдается в первые дни появления жидкости. Оба эти типа имеют благоприятное течение.

3. Лимфоцитарный тип — наиболее известный тип серозного туберкулезного выпота.

4. Нейтрофильный тип, при котором нейтрофилы могут содержаться в серозном экссудате. Это так называемый микрогнойный экссудат — начальная фаза нагноения, которая в дальнейшем часто переходит в макрогнойную. Последняя является уже исключительно нейтрофильной. Появление нейтрофилов — признак неблагоприятный.

5. Мононуклеарный тип — преобладающими клетками могут быть либо моноциты, либо макрофаги, либо мезотелиальные клетки. Последние при туберкулезе не встречаются в больших количествах; их присутствие характерно для раковых экссудатов (рис. 311).

## БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Производится обычным способом на сухих фиксированных препаратах, окрашенных по Граму, Циль-Нильсену и т. д. Для обнаружения туберкулезных палочек в случае серозного экссудата применяется длительное центрифугирование; можно применять и способ флотации (см. «Мокрота», стр. 293).

Благодаря малому содержанию микроорганизмов, бактериоскопическое исследование сравнительно редко дает положительный результат. Особенно это относится к туберкулезной палочке.

Бактериологическое исследование и инокуляцию морской свинке — см. отдел X.

## СЕРОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

При сифилисе, туберкулезе, гоноррее (суставные выпоты) и эхинококкозе как в транссудатах, так и в экссудатах удается установить присутствие специфических антител при помощи реакции связывания комплемента. Методика реакции та же, что и для крови. Реакцию можно ставить с активной и инактивированной жидкостью. Дозу исследуемой жидкости обычно берут вдвое большую, чем кровяной сыворотки.

## ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКССУДАТОВ

1) Серозные экссудаты. Экссудат лимонножелтого цвета, прозрачный. Содержание белка в нем около 3%, клеточных элементов немного, преобладают лимфоциты.

<sup>1</sup> Шмелев Н. А. и Вольфсон Э. Л., Советская медицина, № 6, стр. 10, 1948.



2) **Серозно-гнойные и чисто гнойные экссудаты.** Серозно-гнойный экссудат содержит большое количество белых кровяных шариков и представляется мутным, представляет переход от чисто серозного до чисто гнойного. Последний представляет густую мутную жидкость желтовато-зеленого цвета с высоким удельным весом, щелочной реакцией, содержанием белка около 8% и больше. Нередко гнойный экссудат бывает окрашен в красноватый или бурый цвет от примеси крови или кровяного пигмента. Под микроскопом видно огромное количество гнойных клеток: одни из них хорошо сохранившиеся, другие сморщены, зернисты, нередко в стадии полного распада. При оформившейся эмпиеме — сплошная масса детрита и отмерших гнойных клеток, жировые капли, иногда кристаллы гематоидина и холестерина и почти всегда обильная микрофлора.

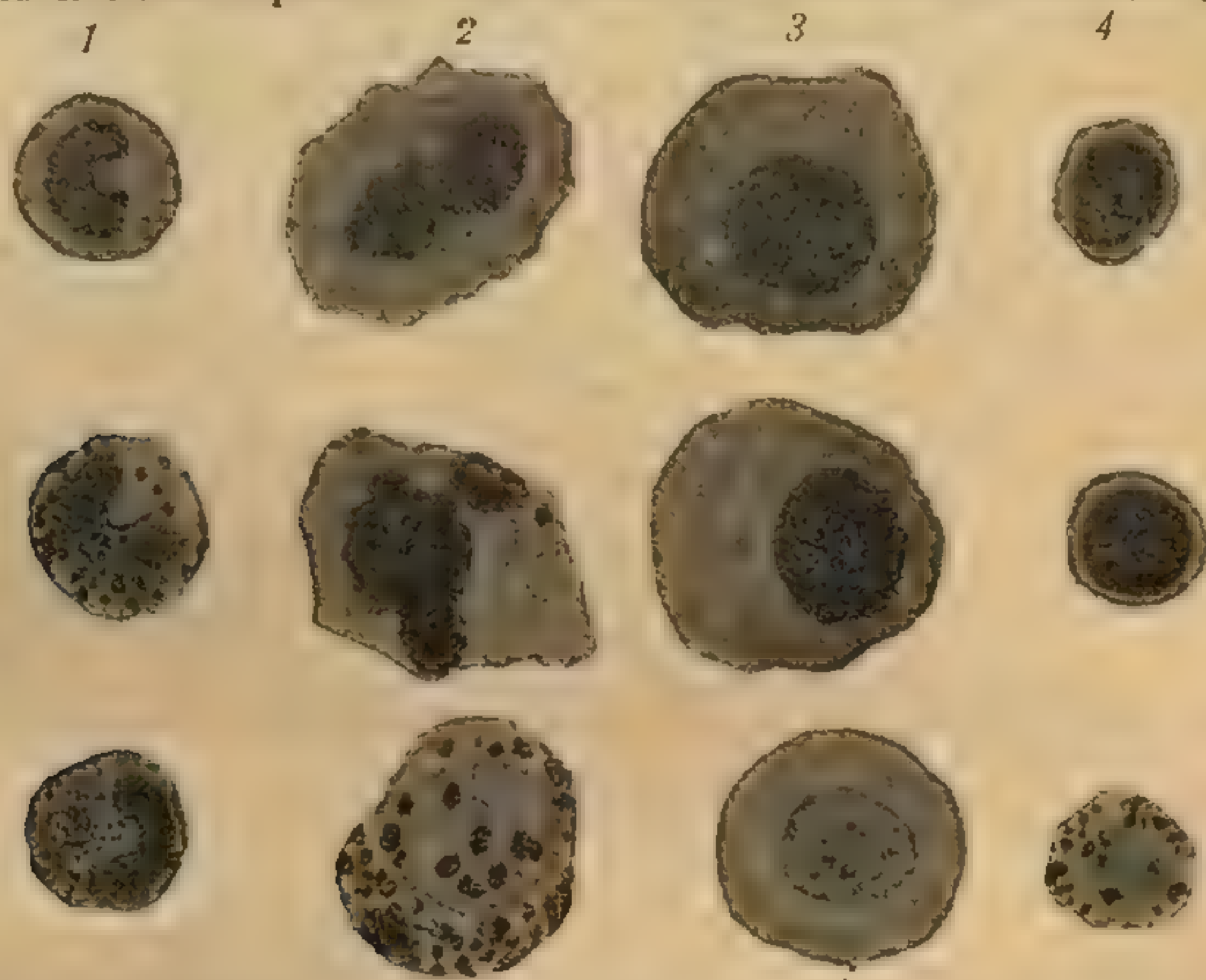


Рис. 311. Типы мононуклеарных клеток в плевральном экссудате (окраска азур-эозином по Эпштейну и по Себин) (по Шмелеву).

1 — нейтроциты; 2 — макрофаги; 3 — мезотелий; 4 — лимфоциты.

Своеобразная и нечасто встречающаяся картина наблюдается при так называемой плевральной эозинофилии. В этих случаях до 75% клеток плеврального выпота являются эозинофильными полинуклеарами, тогда как обычно их встречается 1—5%. Такая эозинофилия может наблюдаться при туберкулезе, опухолях, гангрене легких, послеревматических выпотах. В крови обычно в этих случаях эозинофилия отсутствует. Массивная эозинофилия (до 75—80%) может наблюдаться и при повторных пункциях в стадии резорбции гемоторакса (Г. Алексеев), а также, как мы видели выше, при туберкулезе.

3) **Гнилостные экссудаты.** Гнилостные экссудаты имеют бурый и бурозеленый цвет с крайне неприятным запахом индола и скатола; изредка они содержат сероводород, особенно если находятся вблизи кишок. Сероводород может проникать и без свободного сообщения, но может также образоваться местно под влиянием бактерий. Под микроскопом — гнойные шарики, сильно дегенерированные, много кристаллов холестерина и жирных кислот, иногда кристаллы гематоидина, масса различных микроорганизмов.

4) **Геморрагические экссудаты.** Геморрагические экссудаты наблюдаются при злокачественных новообразованиях плевры, цинге и других геморрагических диатезах, а также при огнестрельных ранениях грудной



клетки. Цитология последних была тщательно изучена в Отечественную войну (Г. Алексеев, Шмелев).

Геморрагические экссудаты имеют бурый цвет, содержат много эритроцитов. Среди них, наряду с эритроцитами нормальной величины и формы, микроциты, шизоциты, пойкилоциты, выщелоченные эритроциты, нейтрофильные лейкоциты в различной стадии дегенерации. При огнестрельных ранениях по числу эритроцитов можно судить, продолжается ли кровотечение или же оно прекратилось. Если кровотечение продолжается, то число свежих эритроцитов не меняется, если оно прекратилось, то число таких эритроцитов уменьшается. В стадии резорбции после ранений много эозинофилов и макрофагов с заглоченными эритроцитами и их обломками и значительное количество клеток мезотелия.

5) Хилезные, хилусоподобные и псевдохилезные экссудаты. Эти экссудаты объединяют под названием молочновидных, так как они имеют вид разбавленного молока с зеленоватым отблеском.

Хилезные экссудаты (*hydrops chylosus*) происходят от разрыва лимфатических сосудов и истечения хилуса. Такие экссудаты главным образом наблюдаются в полости брюшины, но бывают и в плевральных полостях, вследствие разрыва грудного протока, межреберных и легочных лимфатических сосудов. Молочный вид их обуславливается присутствием большого количества жира, который легко отстаивается и образует верхний сливкообразный слой. Под микроскопом в них определяют капельки жира, окрашивающиеся в черный цвет от осмиевой кислоты и в красный — от судана III; кроме того, в них находят очень много красных кровяных клеток, лимфоцитов и немного полинуклеаров. Прибавление к хилезному экссудату одного эфира или эфира с предварительным подщелачиванием несколькими каплями раствора едкого кали быстро просветляет экссудат.

Хилезные экссудаты произвольно свертываются, но не вполне за один раз, — свертки фибрина появляются в них повторно.

Хилусоподобные экссудаты (*hydrops chyloformis s. adiposus*) встречаются чаще, чем хилезные; они обязаны своим происхождением хроническому воспалению серозных оболочек и обыкновенно наблюдаются: в брюшной полости — при атрофическом циррозе печени, в полостях плевры — при туберкулезе, сифилисе и злокачественных новообразованиях плевры. Молочный вид этих экссудатов зависит от распавшихся жирно перерожденных клеток. Вообще жира в них бывает значительно меньше, чем в хилезных экссудатах, но под микроскопом он представляется обыкновенно в форме более крупных жировых шариков; наряду с последними, встречается также масса жирно перерожденных клеток.

Псевдохилезные экссудаты имеют также вид разбавленного молока, но вовсе не содержат жира; если же они содержат жир, то в очень небольших количествах — меньше того количества, которое необходимо для того, чтобы жир служил причиной белого цвета жидкости (менее 0,15%). От чего зависит цвет таких жидкостей, определенно сказать нельзя: одни авторы объясняют его белковыми телами, другие — мукоидным веществом, третьи — особым агрегатным состоянием частиц глобулина, четвертые — нуклеинами и мукоидами и, наконец, некоторые — лецитином.

Псевдохилезные экссудаты при стоянии не образуют сливкообразного слоя и не просветляются от прибавления эфира; от осмиевой кислоты они приобретают лишь коричневый оттенок или даже вовсе не изменяют своего цвета; обычно не свертываются или во всяком случае дают незначительное количество фибрина. Псевдохилезные экссудаты встречаются при липоидной дегенерации почек.



## СОДЕРЖИМОЕ МЕШЕЧАТЫХ ОПУХОЛЕЙ (КИСТ)

Чаще всего приходится наблюдать эхинококковые пузыри и кисты яичников, значительно реже — кисты почек (гидронефрозы) и поджелудочной железы. Ввиду того что перечисленные опухоли по клинической картине представляют весьма большое сходство между собой, а также с экссудатами и транссудатами брюшной полости, дифференциальная диагностика их подчас представляет громадные трудности. Она облегчается путем микроскопического исследования жидкости, добытой пробной пункцией или разрезом.

### ЭХИНОКОККОВЫЕ КИСТЫ

Эхинококковые кисты содержат прозрачную жидкость с низким удельным весом (1006—1015), содержащую небольшое количество сахара и довольно значительное количество хлористого натрия. Белка они не содержат, за исключением тех случаев, когда в кисте развивается воспалительный процесс. Часто в них находят янтарную кислоту. Для обнаружения последней жидкость выпаривают в фарфоровой чашке до консистенции сиропа, подкисляют соляной кислотой и извлекают эфиром, смешанным поровну с алкоголем. Затем эфирную вытяжку сливают в другую чашечку; эфир отгоняют нагреванием на водяной бане. При этом янтарная кислота выкристаллизовывается в виде шестиугольных таблиц или моноклинических призм. Образовавшиеся кристаллы исследуют под микроскопом. При воспалительных процессах жидкость может содержать белок, тогда его приходится предварительно удалять кипячением, осторожно подкислив жидкость соляной кислотой. Реакцию на янтарную кислоту проделывают с прозрачным фильтратом.

Наиболее доказательным для распознавания эхинококка является микроскопическое исследование жидкости.

Под микроскопом видны характерные крючья паразита и куски равномерно слоистой оболочки пузыря (рис. 100); могут быть найдены и сколексы — головки с двумя венчиками крючьев и четыремя присосками (см. стр. 289).

### КИСТЫ ЯИЧНИКА

Кисты яичника содержат жидкости весьма различного характера. Они большей частью обладают очень высоким удельным весом (1020—1026) и бывают богаты клетками. Кроме различного количества красных и белых кровяных клеток, здесь находят цилиндрический эпителий, мерцательный и плоский, часто в состоянии жирового перерождения.

В коллоидных кистах встречаются особого рода образования — коллоидные тельца, происшедшие, вероятно, из эпителиальных клеток.

В дермоидных кистах рядом с плоским эпителием находят волосы, кристаллы холестерина, жирных кислот и гематоидина.

### ГИДРОНЕФРОЗ

В диагностике гидронефроза самое важное — найти в добытой жидкости эпителий почечных канальцев. К сожалению, он находится там в очень небольшом количестве, а потому не всегда удается его обнаружить.

Прежде придавали большое значение нахождению мочевой кислоты (мурексидная проба) и мочевины; но оказалось, что эти вещества содержатся также и в жидкостях яичниковых опухолей.



## КИСТЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Кисты поджелудочной железы встречаются очень редко, и их распознавание представляет большие трудности. При микроскопическом исследовании содержимое этой кисты не дает ничего характерного. Важнейшая особенность ее — это присутствие фермента трипсина (технику его обнаружения см. «Содержимое двенадцатиперстной кишки»). К сожалению, в больших и старых кистах этот фермент может отсутствовать, а потому при отсутствии его в исследуемой жидкости нельзя говорить, что нет кисты поджелудочной железы.

### ГЛАВА ТРЕТЬЯ

## ИССЛЕДОВАНИЕ РАНЕВОГО ЭКССУДАТА

### ВЗЯТИЕ МАТЕРИАЛА

Для производства отпечатков с ран пользуются хорошо вымытыми и обезжиренными стеклами, завернутыми по 5—10 штук в бумагу и простерилизованными сухим жаром. Предложенный Покровской метод хранения стекол в спирту с последующим прокаливанием их на огне непосредственно перед взятием материала считается при массовых исследованиях малоудобным, так как прокаленные стекла требуют времени для их охлаждения. Поверхность раны, с которой делается отпечаток, тщательно очищается от гноя легкими прикосновениями стерильного марлевого тампона так, чтобы клетки в ране не травмировались. Для получения более или менее чистой раневой поверхности иногда приходится использовать не один тампон. После тщательной очистки раны от гноя делается ряд мазков-отпечатков. Обязательным является исследование не менее двух участков раны: более чистого с хорошими грануляциями и менее чистого с вялыми грануляциями и наличием некротических масс. Этому чистого с вялыми грануляциями и наличием некротических масс. Этому придается большое значение, так как для объективного суждения о процессах, происходящих в ране, необходимо знать состав экссудата с различных мест раны. Кроме того, задача состоит в том, чтобы получить именно раневой экссудат, так как исследование мазков свободного гноя не дает указаний на динамику процесса заживления ран, а позволяет лишь судить о наличии и характере раневой инфекции. Надо стараться брать по возможности тонкие отпечатки, не деформируя при этом клетки. Для этой цели слегка прикасаются стеклом к ране, держа его строго перпендикулярно к раневой поверхности, после чего сразу его отнимают.

### ОКРАСКА МАЗКОВ

Полученные мазки сушатся на воздухе, затем одну часть мазков окрашивают по Граму, другую же фиксируют метиловым или этиловым спиртом в течение 5 минут и красят по Романовскому-Гимза (2 капли на 1 см<sup>3</sup> дистиллированной воды) в течение 30—40 минут, в зависимости от температуры окружающей среды. В жаркое время года мазки под краской Романовского находятся меньшее время, в холодное — большее. Мазки рассматриваются с иммерсионной системой. Исследование раневого экссудата до лечения производят 1—2 раза, а в дальнейшем — в зависимости от течения процесса или при каждой перевязке, или раз в 3—4—6 дней. При остром течении процесса исследование производится чаще, при хроническом — реже.



При исследовании ран методом отпечатков одновременно с определением вида различных клеточных элементов раневого экссудата и количества микробных тел фиксируется внимание на степени фагоцитирования микробов клетками, т. е. на вне- и внутриклеточном расположении микробов. Это дает возможность выяснить фагоцитарную активность лейкоцитов, т. е. реактивность данного организма. Известны случаи, когда стафилококки неvirulentные, согласно биологическому исследованию на животных, вызывали смертельный исход и, наоборот, virulentные по лабораторным тест-объектам не мешали заживлению ран. Особенно важно выяснить количество микробов в ране перед наложением вторичного шва.

Покровская считает, что если после дву-троекратных исследований или совсем не удастся обнаружить микробов, или они обнаруживаются в виде единичных экземпляров, раны можно зашивать.

Из сказанного можно сделать вывод, что, несмотря на сравнительную простоту метода отпечатков, он дает возможность выяснить динамику количества микробов в ране, микробную ассоциацию и реактивность макроорганизма. Ответы лаборатории, касающиеся видового состава микрофлоры ран, в настоящее время не удовлетворяют хирургов, так как не говорят о virulentности микробов и силе реакции тканей и клеток на инфекцию.

### ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОГРАММЫ

Для объективного суждения об улучшении или ухудшении раневого процесса особенно необходимо производить точный подсчет соотношения клеточных элементов в раневом экссудате. Подсчет этот производится следующим образом: в 20 полях зрения различных участков мазка сосчитывают отдельно количество нейтрофильных клеток и количество полибластов с последующим переводом в проценты.

При чтении цитограммы раневого экссудата должно быть обращено большое внимание на количество нейтрофилов, находящихся в стадии фагоцитирования микробов, которые были фагоцитированы каждым нейтрофилом в отдельности. При оценке степени активности фагоцитарного процесса необходимо учитывать также общее количество микробов, находящихся в ране. Если в ране находят небольшое количество бактерий, наличие единичных фагоцитированных микробов не говорит о слабой фагоцитарной способности нейтрофилов. Об активности фагоцитоза можно судить и по степени окраски и структуре микробов, подвергшихся фагоцитированию. Если бактерии, находящиеся в нейтрофилах, окрашиваются хорошо и сохраняют свою структуру, то это указывает на еще не законченный процесс переваривания этих микробов нейтрофилами и на их жизнеспособность. Наличие в нейтрофилах микробов различной величины, различной степени окраски и плохо контурированных позволяет признать наличие активного процесса переваривания микроорганизмов. Очень важно отметить и степень сохранности самих нейтрофильных клеток раневого экссудата, которая зависит от биохимических процессов в ране и от virulentности микробов. При наличии мало virulentных микроорганизмов целостность нейтрофильных клеток не нарушается или нарушается в незначительной мере. При фагоцитировании virulentных микробов нейтрофилами происходит гибель последних, сопровождающаяся рексисом и лизисом их ядра.

Нейтрофилы раневого экссудата можно разделить по степени дегенерации на три стадии.



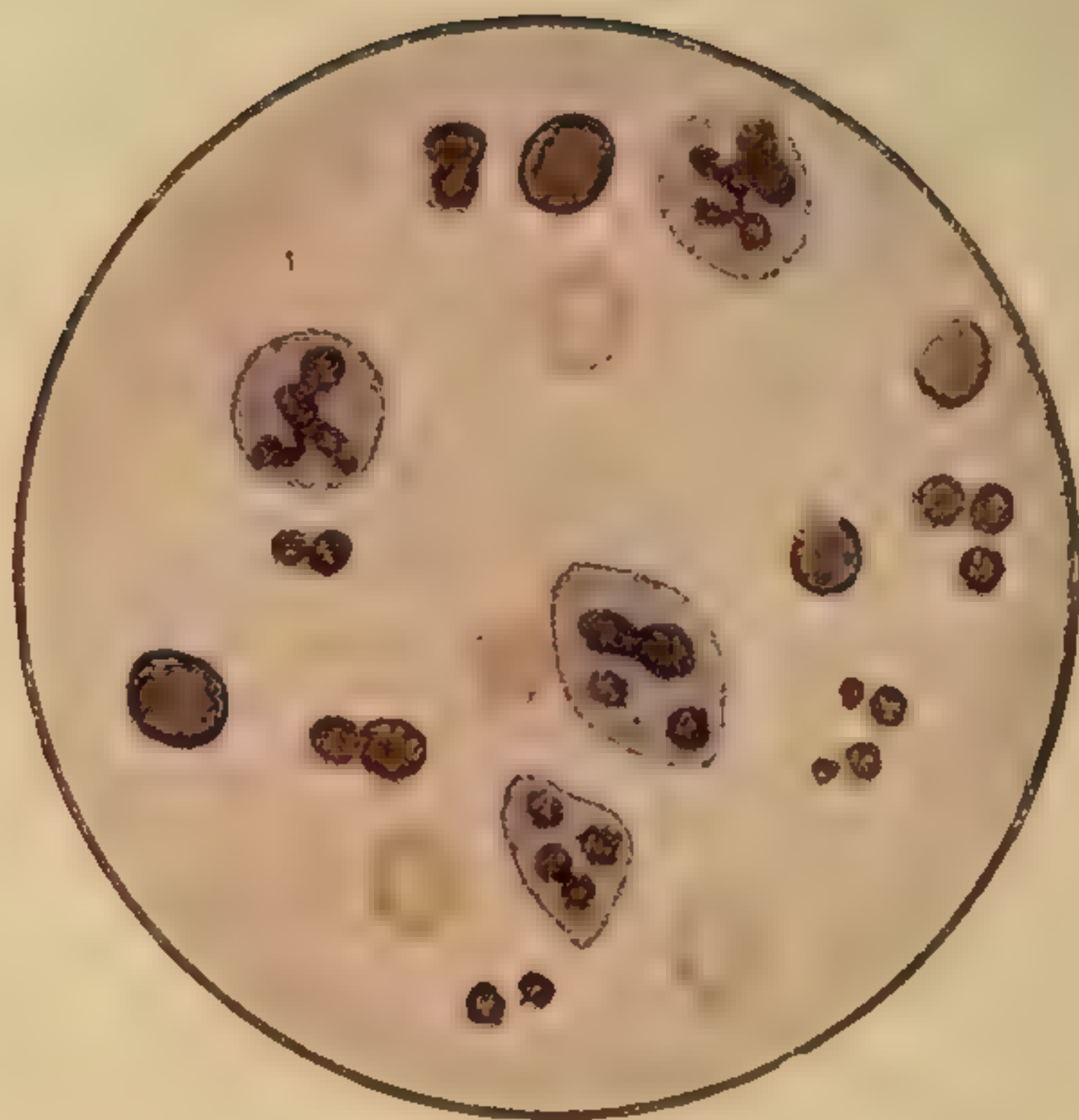


Рис. 310. Дегенеративно измененные нейтрофилы в плевральном экссудате. Окраска по Романовскому-Гимза.



Рис. 312. Лимфоидный полибласт.



Рис. 313. Моноцитондные полибласты.



Рис. 314. Тканевой полибласт.



Рис. 315. Макрофаг.



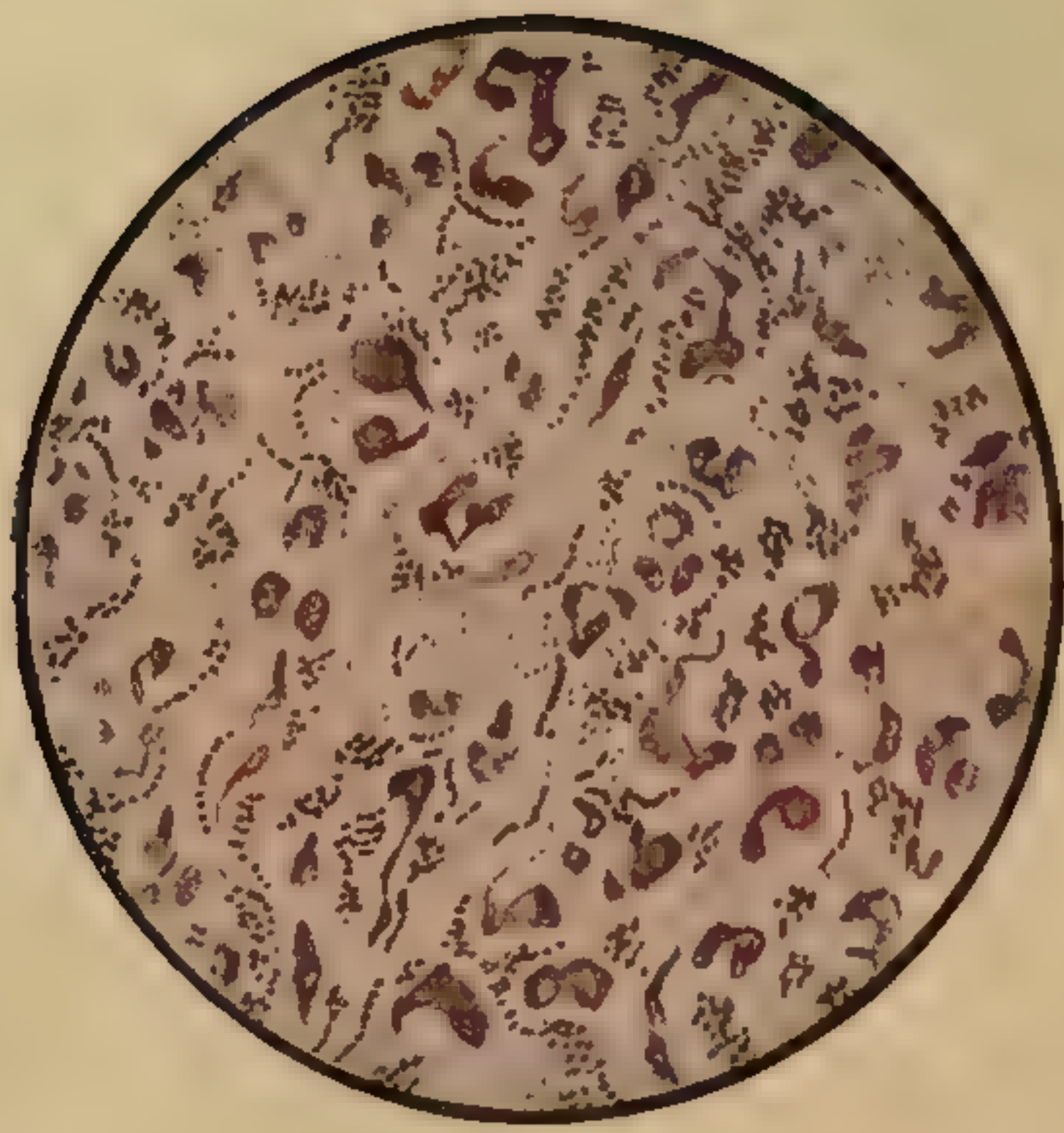


Рис. 316. Раневой экссудат в период тяжелой раневой инфекции: обильное количество микробов, нейтрофилы во второй и третьей стадии дегенерации.

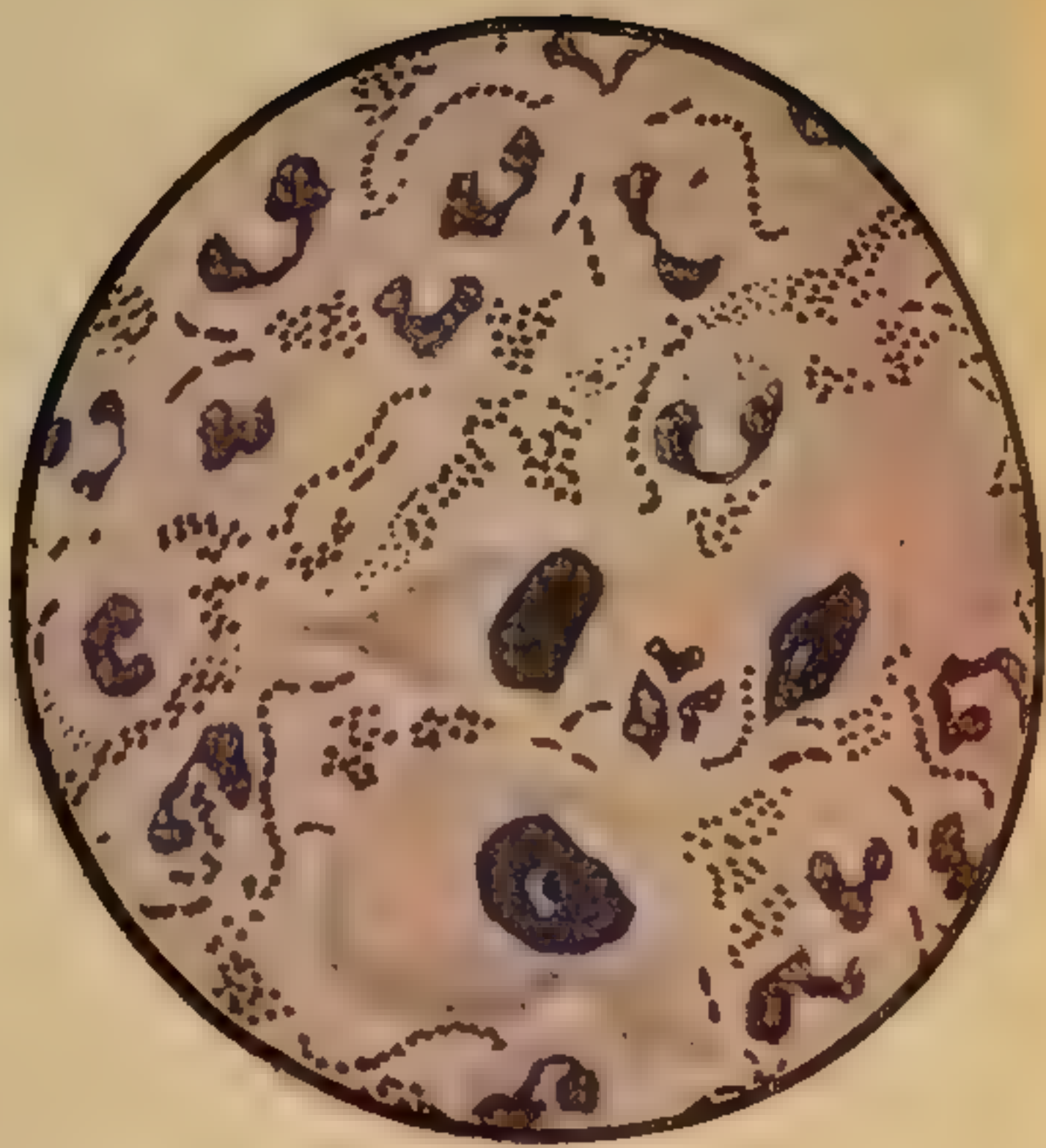


Рис. 317. Раневой экссудат в период затихания инфекции: часть микробов расположена внутриклеточно, нейтрофилы в первой стадии дегенерации.

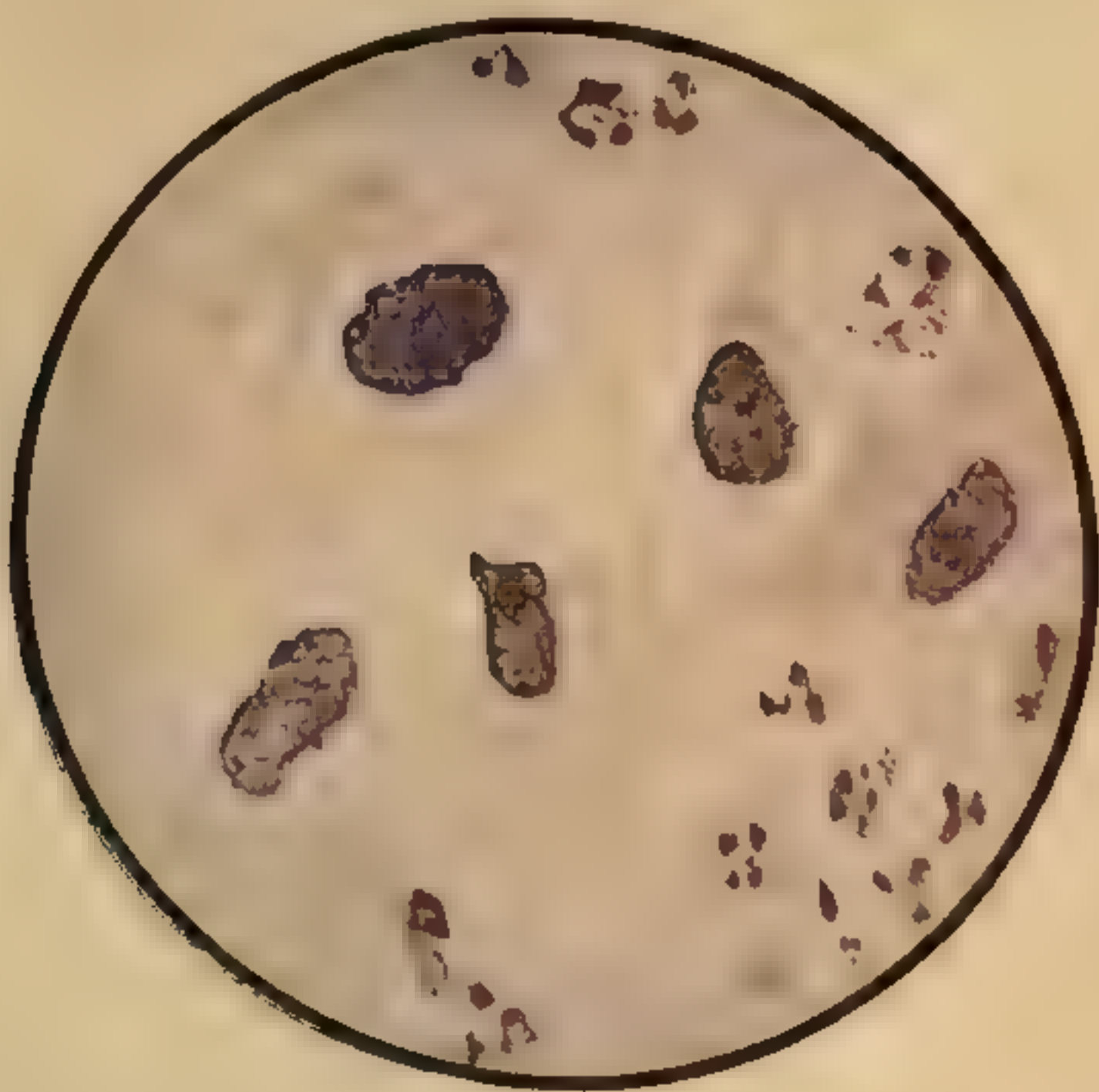


Рис. 318. Раневой экссудат в период активной регенерации: нейтрофилы, лимфоидные и моноцитоподобные клетки в небольшом количестве и тканевые полибласты (значительное количество).

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ  
КЛЕТОЧНЫХ

Второй стадии ранев

элементов в раневом э

содержанием соотв

клеток в ране

раневом эксс

и исключительном

Рис.

Эритроциты, нейтро

и эритроциты,

и эритроциты, и Фил

и эритроциты — мак

и эритроциты, Заварз

и эритроциты, полибла

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э

и эритроциты, Э



Первая стадия: ядра сильно гипертрофированы, но сегментация их сохранена; окраска красно-фиолетовая; хроматиновая сеть более рыхлая, протоплазма клеток плохо контурируется.

Вторая стадия: дегенерация характеризуется еще большей гипертрофией ядра; ядро становится округлым или неправильной формы, протоплазма плохо видна.

Третья стадия: нейтрофилы неправильной формы в виде плоских обрывков самой разнообразной величины. Клетки в этой стадии красятся азур-эозином в красно-фиолетовый цвет.

В первой и второй стадии дегенерации нейтрофилы принимают участие в фагоцитозе, и только в третьей стадии дегенерации фагоцитарная способность нейтрофилов исчезает.

До сих пор остается спорным вопрос о том, живые или мертвые клетки раневого экссудата преобладают в острой стадии процесса. Отмечено, что в острой стадии раневого процесса при маловирулентной инфекции лейкоциты остаются мало измененными; напротив, при хронических, вяло текущих процессах встречается большое количество лейкоцитов в разных стадиях дегенерации. Наблюдения за раной показывают, что с улучшением процесса уменьшается количество дегенеративно измененных клеток. Кроме того, при хорошем оттоке гноя и частой смене повязок количество дегенеративных клеток уменьшается.

### ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЯВЛЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ФОРМ РАНЕВОГО ЭКССУДАТА

В первой стадии раневого процесса (3—6-й день) количество нейтрофильных клеток в раневом экссудате бывает большим, чем в последующих. При ареактивном состоянии организма и газовой гангрене отмечается уменьшение клеток в раневом экссудате даже в первой стадии процесса. Состав раневого экссудата при газовой гангрене характеризуется большим количеством эритроцитов и незначительным содержанием нейтрофилов.

Помимо нейтрофилов, в раневом экссудате содержатся другие клеточные элементы, терминология которых у различных авторов неодинакова. Покровская и Филимонов называют эти клеточные элементы полибластами, Мечников — макрофагами, Максимов — макрофагами-полибластами (гистиоциты), Заварзин, Аничков — гистиоцитами и т. д. Правильнее назвать их полибластами и разделить на три вида: лимфоидные, моноцитонидные и тканевые. Эти клеточные элементы происходят из клеток крови и тканевых гистиоцитов.

Лимфоидные полибласты имеют сходство с широко протоплазменными лимфоцитами (рис. 312).

Моноцитонидными полибластами называют большие клетки с дымчатоголубоватой протоплазмой и ядром, напоминающим ядра моноцитов. Эти клетки имеют много переходных форм. Наряду с моноцитонидными полибластами, в раневом экссудате встречаются и настоящие моноциты, но количество их бывает невелико (рис. 313).

У тканевых полибластов ядра округлой почкообразной и овальной формы, расположенные большей частью в центре клетки (рис. 314).

В ядрах всегда обнаруживаются ядрышки. Контуры протоплазмы часто не видны, протоплазма расплывчатая, вытянутая, иногда даже хвостатая. Окраска протоплазмы различна, в зависимости от зрелости клетки: она то интенсивно синяя, то голубоватая.



По структуре ядра и протоплазмы, а также по интенсивности окраски последней часть названных клеток напоминает переходные камбиальные клетки соединительной ткани (согласно классификации Заварзина). Большая часть этих клеток сходна с клетками эндотелия сосудов. В первом периоде заживления раны (подготовительный период), когда в ней нет активной регенерации, этих клеток не встречается.

При активном грануляционном процессе, когда гистологически обнаруживаются клетки молодой соединительной ткани и происходит образование капилляров, в раневом экссудате появляются тканевые полибласты.

В первом периоде образования грануляционной ткани встречаются более молодые тканевые полибласты, которые бывают меньших размеров и имеют более интенсивно окрашенную протоплазму. В период, когда заканчивается замещение дефекта раны грануляционной тканью и образуется плотный рубец, происходит сильное уменьшение количества тканевых полибластов.

Резкое снижение количества тканевых полибластов отмечалось и в тех случаях, когда в результате попадания патогенных микробов или неправильно проводимого лечения раны или ухудшения общего состояния организма активная регенерация затихала. При этом в раневом экссудате вновь обнаруживались нейтрофилы, лимфоидные и моноцитоподобные полибласты и макрофаги. Происхождение тканевых полибластов, повидимому, различно. В тех случаях, когда полибласты не разделяются на три указанные формы, нельзя точно выявить активность регенерации раны. Например, если при исследовании отпечатков раны в поле зрения встречается 3—4 полибласта, то это еще не дает возможности окончательно высказаться об активности регенераторного процесса. Если же 20—30°, из встречающихся полибластов будут тканевыми, то регенерацию можно считать вполне достаточной. Если в раневом экссудате длительное время будут преобладать лимфоидные и моноцитоподобные полибласты, а тканевые будут встречаться в единичных экземплярах, то нужно признать, что заживление раны идет медленно.

Таким образом, нахождение большого количества тканевых полибластов в раневом экссудате свидетельствует об активной регенерации процесса. Особенно важно следить за количеством тканевых полибластов при применении антисептиков, так как уменьшение количества тканевых полибластов в раневом экссудате говорит об ухудшении течения процесса заживления раны.

Макрофаги-гистиоциты (макрофаги Мечникова) (рис. 315) в первом периоде раневого процесса, наряду с нейтрофилами, принимают участие в фагоцитозе. В конце второй стадии, когда очищение раны заканчивается и наступает период образования рубца, количество макрофагов уменьшается. В третьей стадии, в стадии рубцевания раны, макрофаги теряют амебоидную подвижность, становятся неподвижными и принимают участие в образовании рубцовой ткани.

Исходя из данных цитологического и бактериоскопического исследования раневого экссудата, раневой процесс делят на следующие периоды. 1. В первые часы от момента ранения клеточный состав раневого экссудата представлен большим количеством эритроцитов и малым количеством лейкоцитов. 2. После внедрения микробов в раневом экссудате обнаруживается большое количество разнообразной флоры и то или другое количество нейтрофилов (в зависимости от патогенности и вирулентности микробов и общего состояния макроорганизма). Лимфоидные и моноцитоподобные полибласты или отсутствуют, или встречаются в виде единичных экземпляров (рис. 316). 3. При сохранении активной реакции



организма на внедрение инфекции количество микробов постепенно уменьшается, а остающиеся располагаются большей частью внутриклеточно. Постепенно уменьшается и число нейтрофилов, появляются лимфоидные и моноцитoidные полибласты, а позднее макрофаги и тканевые полибласты (рис. 317). 4. При недостаточной сопротивляемости организма в раневом экссудате длительное время наблюдается наличие свободно лежащих патогенных и вирулентных микробов. Они или не захватываются нейтрофилами, или выходят из них без изменения. Выход микробов из нейтрофилов сопровождается дегенерацией последних, в результате чего среди нейтрофилов появляются дегенеративные формы. 5. При наличии чистой раны с яркими розовыми грануляциями в экссудате ее можно найти лишь небольшое количество микробов. Количество нейтрофилов, лимфоидных, моноцитoidных полибластов и макрофагов в таких случаях очень невелико; тканевые полибласты, напротив, находятся в увеличенном количестве. 6. В период образования рубца количество клеточных элементов уменьшается, доходя в некоторых случаях до единичных экземпляров. Уменьшение клеточных элементов, видимо, в данном случае нужно объяснить тем, что они, будучи фиксированы, на стекла не попадают (рис. 318). 7. Раневой экссудат длительно не заживающих ран большей частью состоит из значительного количества дегенеративных нейтрофилов, небольшого числа моноцитoidных и лимфоидных полибластов и почти полного отсутствия тканевых. Микробы встречаются в небольшом количестве. 8. Для раневого экссудата трофических язв характерно почти полное отсутствие указанных клеточных элементов и наличие большого количества нитей фибрина. Описанную картину не всегда легко отличить от таковой же в период рубцевания ран; однако для последних типично наличие тканевых полибластов, которые отсутствуют в экссудате трофических язв.

---



## ОТДЕЛ ДЕВЯТЫЙ

# ИССЛЕДОВАНИЕ СЕКРЕТОВ И ЭКСКРЕТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

### ОБЩИЕ УСТАНОВКИ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ СЕКРЕТОВ И ЭКСКРЕТОВ С ЦЕЛЬЮ ОБНАРУЖЕНИЯ КЛЕТОК ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Достоверным лабораторным методом в диагностике злокачественных новообразований в настоящее время является гистологическое исследование биоптического материала и обнаружение элементов злокачественного новообразования при микроскопическом исследовании секретов и экскретов человеческого организма.

Предложенные различные реакции на рак имеют весьма относительную диагностическую ценность, так как ни одна из них не является специфической, и поэтому они почти не применяются в клинике.

При злокачественных новообразованиях в дыхательном, пищеварительном и мочеполовом тракте имеется много условий для попадания в соответствующие выделения мелких частиц и отдельных клеточных элементов опухоли.

Для обнаружения мелких частиц, исходящих из новообразования, величина которых часто не превышает размера булавочной головки, и для отбора вообще соответствующих частиц объекта, в которых могут возникнуть элементы новообразования, целесообразно пользоваться разработанным С. Л. Эрлихом методом послойного исследования жидких объектов и тщательного отыскивания этих же образований в густых объектах.

Густые объекты (мокрота, гной и др.) помещаются тонким слоем в чашки Петри. Поместив чашки на черном или белом фоне (подложив черную или белую бумагу), узким тонким металлическим шпателем и препаровальной иглой отыскивают среди гноя, слизи, крови, сгустков и пр. клочки, выделяющиеся своей консистенцией, формой, окраской (плотноватые, сероватые, буроватые, кровянисто окрашенные, крошковатые). Из отобранных подозрительных частиц расщипыванием и растягиванием готовят нетолстые препараты, накрывают покровными стеклами, рассматривают в нативном виде; при надобности отобранный материал можно и окрасить.

Микроскопически в нативных неокрашенных препаратах при наличии карциноматозного новообразования обнаруживается большее или меньшее количество атипичных клеток, преимущественно больших, с одним или несколькими ядрами, часто эксцентрически расположенными. Протоплазма указанных клеток часто с жировой дегенерацией, вакуолизирована или



в состоянии ороговения. Клетки эти могут лежать свободно и, что более характерно для злокачественного образования, располагаются округлыми группами в виде тяжей или луковиц. Характер клеток и их расположение зависят, естественно, от гистологической структуры опухоли.

В мелких клочках, относящихся к злокачественному новообразованию, обычно имеется волокнистая основа иногда с эластическими волокнами, иногда с капиллярами и большим количеством указанных атипических клеток в различных сочетаниях (железистоподобных образований, тяжей, сосочков, луковиц).

При отсутствии макроскопически видимых частиц нередко при микроскопическом исследовании отобранных частиц объекта или в его осадке можно видеть сочетания атипических клеточных элементов, часто с тканевой основой, и в более мелких микроскопических клочках. Встречаются также исходящие из новообразования некротические мелкие тканевые клочки с волокнистой основой, иногда альвеолярного строения, покрытые бактериями, содержащие часто кристаллы гематоидина и незначительное количество клеточных элементов. Такого рода клочки встречаются в соответствующих объектах чаще всего при раке гортани, пищевода, желудка и мочеполовой системы.

Наличие в различных выделениях и отделениях значительного количества клеток особенной структуры, по виду резко отличающихся от клеток, обычно встречающихся в том или другом объекте, может вызвать подозрение на наличие новообразования.

Нужно пользоваться и методом окрашивания препаратов как дополнением в тех случаях, где необходимо более точно установить характер клеточных элементов, например, для отличия небольших клеток новообразования от элементов крови и в случаях с небольшим содержанием клеточных элементов в объектах со значительной примесью крови и фибрина. Препараты для окрашивания в этих случаях готовят из тщательно отобранных частиц, предварительно изученных в нативных препаратах. При этом покровное стекло снимают, нужную частицу извлекают, растягивают (но не размазывают во избежание деструкций клеточных элементов) препаровальными иглами, высушивают, фиксируют и окрашивают. Если в объекте отсутствуют видимые глазом клочки, то готовят нетолстый мазок из осадка или жидкости. В случаях, когда имеются клочки и осадок или жидкость, мазок делают отдельно и клочки также обрабатывают отдельно (можно на одном предметном стекле). Для этих целей вполне удовлетворяет окраска препаратов обычными гематологическими красками (по Романовскому-Гимза или Паппенгейму). Этот дополнительный метод оказывает значительные услуги при исследовании главным образом пунктатов из опухолей и жидкости из серозных полостей. Случаи мелко-круглоклеточных сарком, миелом (плазмочитом) и других опухолей из лимфоидных и костномозговых элементов не могут быть установлены без изучения окрашенных препаратов.

Менее обоснованным является метод исследования различных выделений (мокроты и др.) в окрашенных препаратах-срезах, получаемых уплотнением объектов и заделкой их в целлоидин или парафин. Применение этой громоздкой и сложной гистологической техники, употребление для изучения структуры ткани, совершенно не оправдывается при исследовании секретов и экскретов. Для обнаружения клеточных комплексов при этом нужно готовить серийные срезы и часто приходится просматривать значительное количество препаратов.

Гистологическим методом можно пользоваться лишь в тех случаях, когда в объект попадают более или менее крупные частицы, что бывает



очень редко, главным образом в желудочном содержимом, реже в мокроте и моче, при распадающемся новообразовании в соответствующих органах.

При этом типе анализов необходимо иметь в виду изменения нормального эпителия вследствие метаплазии и пролиферации его. Нередко метаплазированный эпителий встречается в виде пластов, где часто можно видеть его переходы из нормального состояния в состояние метаплазии. Сочетания клеток (округлые группы, железистоподобные и стержневидные образования) при этом не встречается. При наличии метаплазированного эпителия, например, в мокроте, при бронхитах обычно находят элементы воспаления (гной, фибрин) и специфического возбудителя (пневмококк, палочку инфлюэнцы, стафилококк, стрептококк). Тканевые клочки при этом, как правило, отсутствуют. В некоторых случаях наличие метаплазированного эпителия в различных объектах (мокроте, желудочном содержимом и др.) может представлять известные затруднения в смысле дифференциации этих элементов от опухолевых.

В таких неясных случаях все же иногда приходится подозревать наличие новообразования, тем более что современное толкование перехода нормального эпителия в опухолевый через метаплазию не дает возможности дифференцировать его переходные формы.

Несомненно, что окончательное решение вопроса о наличии у больного новообразования вообще и особенно в таких неясных случаях принадлежит врачу-клиницисту, наблюдающему больного и имеющему в своем распоряжении также данные лабораторного исследования.

### ИССЛЕДОВАНИЕ МОКРОТЫ

В мокроте элементы рака могут быть обнаружены при раке гортани, легких, а иногда и при раке языка. Приготовление препаратов из мокроты для исследования в нативном виде путем отбора частиц производится, как указано выше.

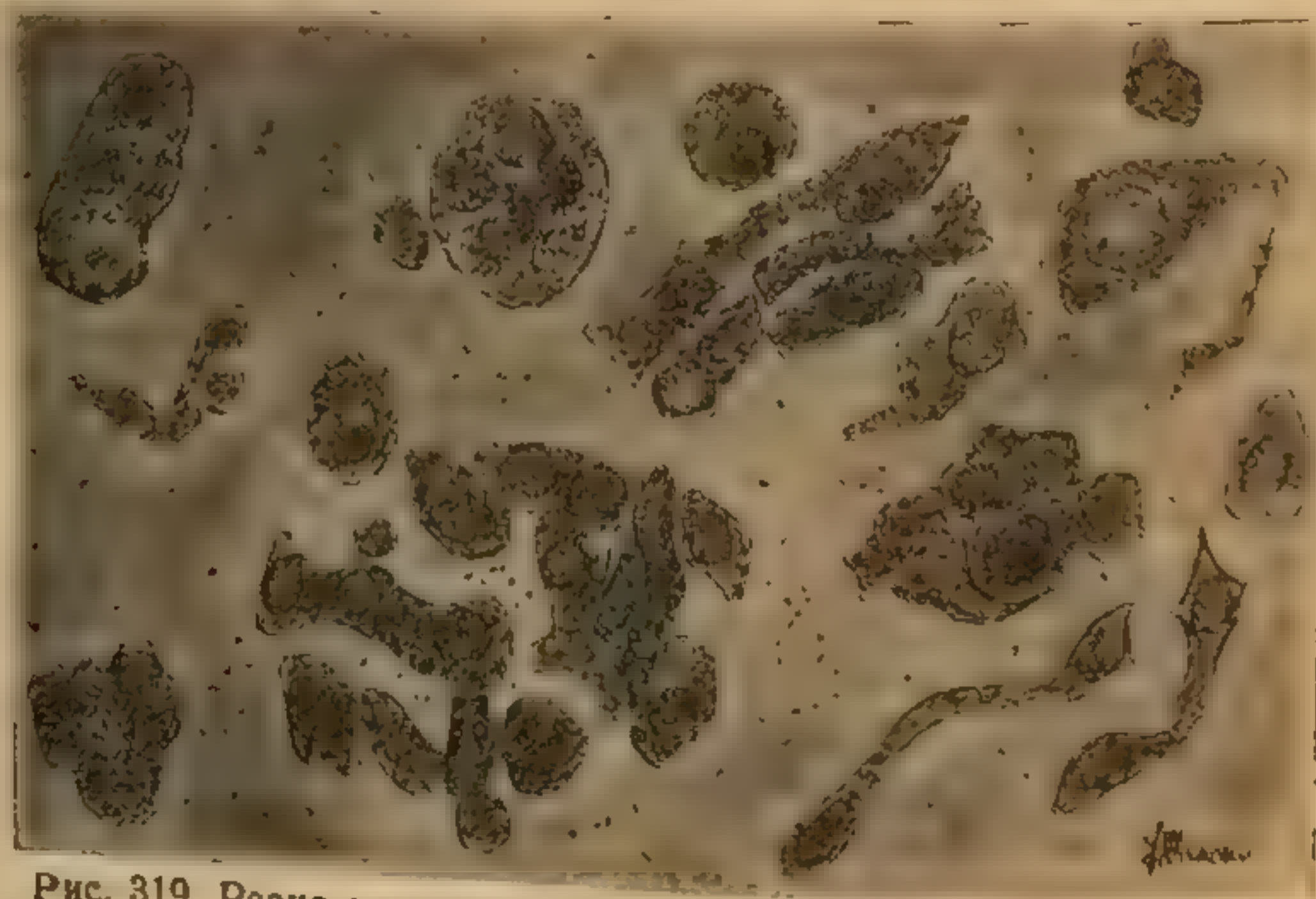


Рис. 319. Резко атипичный полиморфный эпителий в мокроте при раке легкого. Нативный препарат. Увеличение в 300 раз.

В гортани преобладает плоскоэпителиальный рак с ороговением, развивающийся из покровного эпителия главным образом голосовых связок. В препаратах из мокроты можно найти при этом большее или меньшее



количество атипического плоского эпителия (рис. 319). Многие клетки содержат несколько ядер с крупными ядрышками, а также с жировой дегенерацией и часто в состоянии ороговения. Для плоскоэпителиального рака характерны группировки из указанных клеток в виде тяжей и лукович (рис. 320). При раке гортани в мокроте часто встречаются мелкие частицы опухоли, нередко некротизированные (рис. 321). Однако обнаружение указанных элементов плоскоэпителиального рака в мокроте может иметь место не только при раке гортани, но и при раке легких и языка, а иногда и при раке пищевода; поэтому вообще по элементам рака различной гистологической структуры, обнаруживаемым в мокроте, нельзя судить о локализации новообразования.

Рак легкого развивается преимущественно в бронхах. Гистологическая структура его отличается большим разнообразием, и поэтому в мокроте при раке легкого встречаются его элементы, которые, благодаря своему резко выраженному атипизму, должны обращать на себя внимание (рис. 322). В мокроте обнаруживаются клеточные элементы рака легкого, смешанные со слизью, гноем и кровью, и в виде мелких частиц опухоли величиной с булавочную головку и меньше, часто выявляемых лишь микроскопически. Обнару-

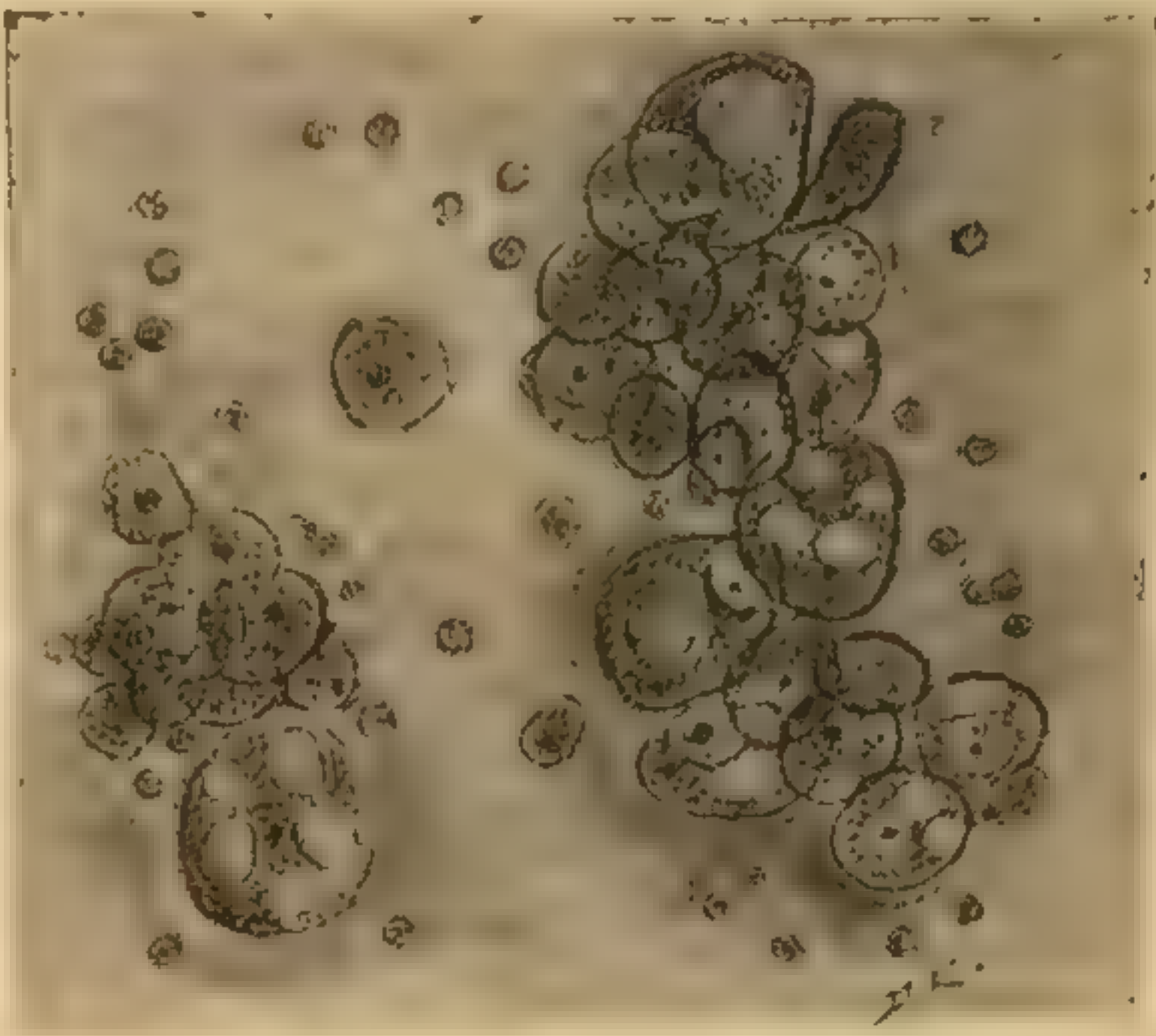


Рис. 320. Атипический эпителий с большими ядрами и ядрышками и с вакуолизацией в виде округлых групп в мокроте и желудочном содержимом при железистом раке. Нативный препарат. Увеличение в 300 раз.

жение в мокроте более или менее крупных частиц распадающегося рака легких, которые могли бы быть исследованы гистологической методикой, — явление чрезвычайно редкое. Характер клеток и их сочетания, встречаемые в мокроте при раке легких, естественно, зависят от гистологической структуры опухоли. Встречаются элементы плоскоэпителиального рака с ороговением и без него, элементы железистого рака в виде округлых групп и железистоподобных образований и довольно часто атипический эпителий с резким полиморфизмом. Указанные клеточные элементы обнаруживают среди мокроты и в мелких клочках из распадающегося рака. По характеру клеточных элементов не всегда можно определить гистологическую структуру опухоли. Точно так же по этим элементам невозможно установить локализацию опухоли и определить наличие первичного или метастатического рака легких.

Элементы рака легких в мокроте можно выявить в 70—75% случаев. Отсутствие в мокроте элементов рака легкого наблюдается при закупорке бронха, обширных абсцессах с гнилостным распадом, ослабленном дыхании, вследствие наличия большого количества жидкости в плевре, эмфиземе или ателектазе, когда плохо выделяется мокрота. При раке легкого не выделяется мокроты, типичной по своему виду и характеру. Элементы рака можно обнаружить в слизистой, слизисто-гнойной, гнойной мокроте без видимой примеси крови и с различным ее содержанием.

Наличие элементов рака в мокроте может быть непостоянным. Часто карциноматозные элементы находят при первом исследовании мокроты, а



в некоторых случаях обнаружить их удастся лишь при повторных исследованиях.

Необходимо обратить внимание на наличие в мокроте некоторых косвенных данных, которые нередко способствуют обнаружению карциноматозных элементов. К этим данным должны быть отнесены эластические волокна, кристаллы холестерина и жирнозернистые клетки.

Наличие в мокроте эластических волокон свидетельствует о некрозе ткани в каком-либо месте дыхательного тракта в связи с патологическим процессом различного происхождения. Чаще всего это имеет место при туберкулезе, абсцессе, гангрене и новообразованиях легких. При актиномикозе, эхинококке, сифилисе, дермоидной кисте легких и др. также

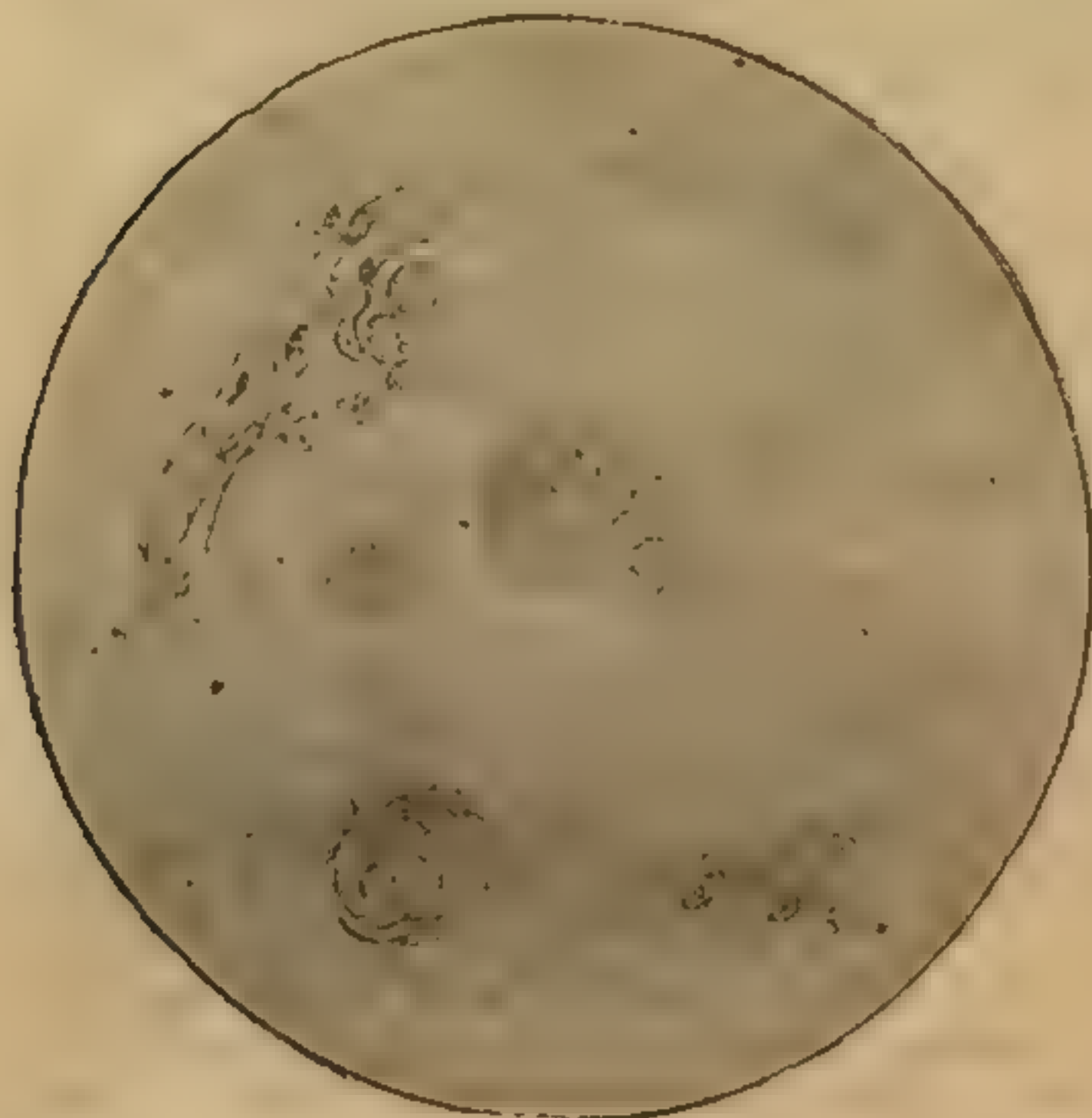


Рис. 321. Атипичный плоский эпителий частью с жировой дегенерацией в виде лукович и небольшого стержня среди белых телец в мокроте при раке гортани или легкого. Нативный препарат. Увеличение в 300 раз.

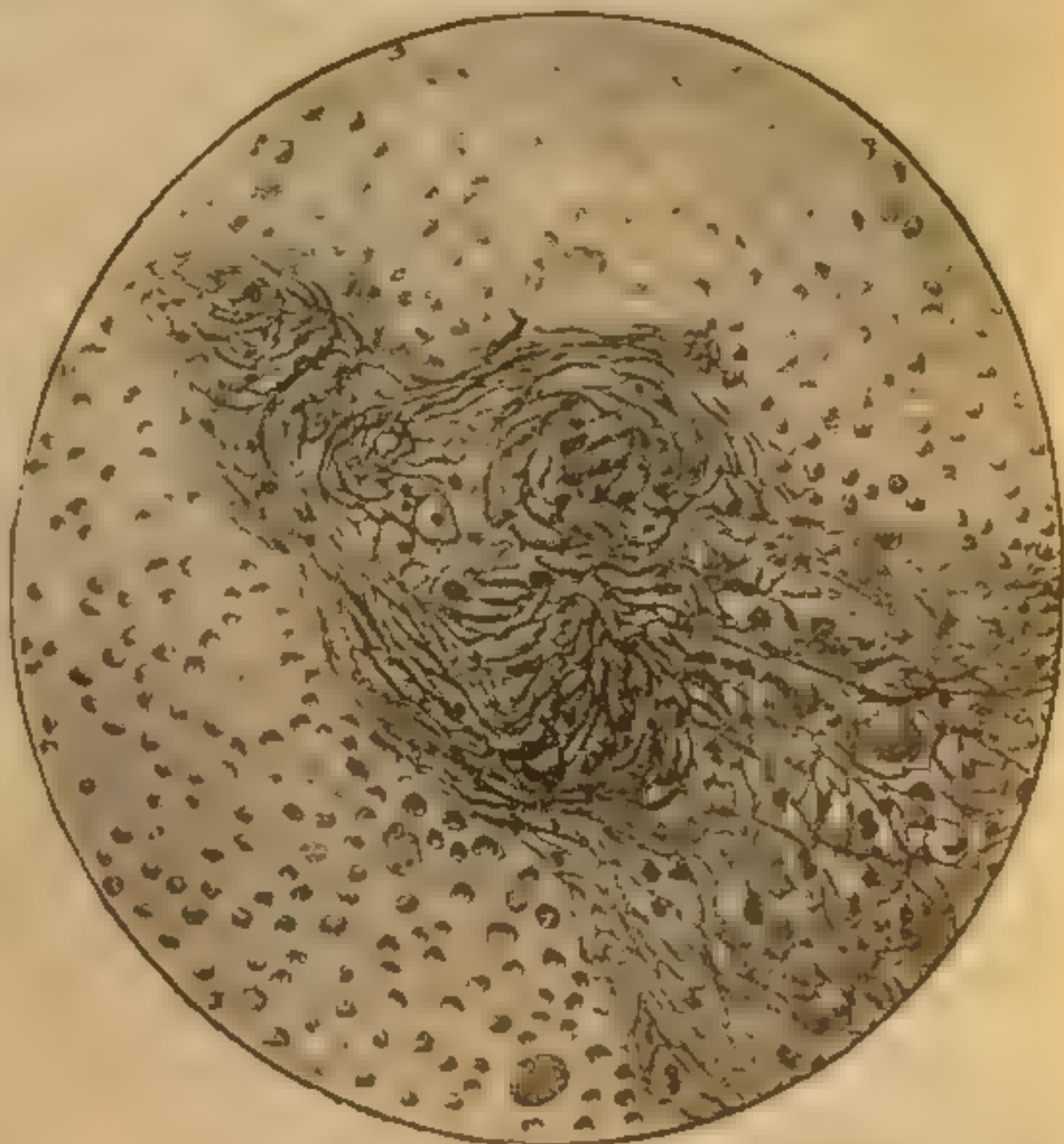


Рис. 322. Стержень из плоского атипичного эпителия со склонностью к образованию лукович среди гноя в мокроте. Нативный препарат. Увеличение в 300 раз.

могут быть найдены в мокроте эластические волокна. Если анализ мокроты не говорит в пользу указанных процессов и имеется клиническое подозрение на рак легкого, то наличие эластических волокон должно побудить к повторным исследованиям, которые часто помогают обнаружить элементы опухоли.

Кристаллы холестерина в мокроте, как известно, встречаются вместе с другими элементами тетрады Эрлиха (см. стр. 287) при абсцессе и новообразованиях легких, а также при прорыве дермоидной кисты в бронх<sup>1</sup>. Наличие кристаллов холестерина без других элементов, способствующих установлению причины их появления в мокроте, может усилить подозрение на рак легкого и побудить к повторным исследованиям мокроты. Мы неоднократно находили карциноматозные элементы в мокроте вместе с кристаллами холестерина, а иногда наличие в мокроте одиночных кристаллов холестерина предшествовало обнаружению клеточных элементов рака.

При раке легких в мокроте нередко обнаруживаются жирнозернистые клетки, часто расположенные в мелких тканевых клочках с эластическими волокнами, часто вместе с атипичным эпителием. Иногда же

<sup>1</sup> Эрлих С. А., Монография, Харьков, 1920.

в мокроте при раке  
эпителия, а в  
атипичный эпителий  
Самое собой  
клеток  
наличие, и при  
вторично исследовании  
определенные карциноматозные  
жирнозернистые клетки  
с резкой жировой дегенерацией  
При нахождении  
атипичных клеток  
рака. Это обстоятельство  
для выявления более  
элементов и др., позво  
Надеждающее микро  
рака легкого является  
время имеет большое

#### ИССЛЕДОВАНИЕ

В желудочном со  
пищевода и желудка.

Из желудочного  
или фракционно, гото  
как указано выше. Г  
иногда более крупны  
в отверстие или сн  
погружают конец зон  
ванной) водой, куда  
ные препараты, а б  
срезов.

Рак пищевода  
относится к плоско  
клеточным железисти  
желез пищевода.

В нативных  
доного содержи  
рака пищевода  
плоского эпите  
рис. 323). На  
стную основу  
некротиче  
распадом кро  
элементов.

В случа  
характерные  
вакуолярно  
образований

В случ  
менты могу  
случаев ра  
доном соде



в мокроте при раке легкого обнаруживаются лишь жирнозернистые клетки, а в дальнейшем при повторных исследованиях выявляется также и атипический эпителий.

Само собой понятно, что обнаружение в мокроте лишь жирнозернистых клеток даже в тканевых клочках не дает основания для суждения о наличии рака. При отсутствии ясных данных, оправдывающих их наличие, и при клиническом подозрении на рак легкого необходимо повторно исследовать мокроту. В случаях рака легкого удается выявить определенные карциноматозные элементы и предположить, что обнаруженные жирнозернистые клетки, очевидно, представляют собой раковые клетки с резкой жировой дегенерацией.

При нахождении в мокроте или других объектах лишь одиночных атипических клеток нельзя предположить на этом основании наличие рака. Это обстоятельство должно побудить к повторным исследованиям для выявления более убедительных данных (группировок из клеточных элементов и др.), позволяющих подозревать рак.

Надлежащее микроскопическое исследование мокроты в диагностике рака легкого является наиболее достоверным методом и в настоящее время имеет большое практическое значение.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ЖЕЛУДОЧНОГО СОДЕРЖИМОГО

В желудочном содержимом могут быть обнаружены элементы рака пищевода и желудка.

Из желудочного содержимого, полученного после пробного завтрака или фракционно, готовятся препараты для исследования в нативном виде, как указано выше. При раке пищевода или желудка нередко мелкие, а иногда более крупные частицы опухоли отторгаются зондом и попадают в отверстие или снаружи у края его. Для обнаружения этих частиц погружают конец зонда в чашку Петри с обыкновенной (недестиллированной) водой, куда эти частицы смываются; из них также готовят нативные препараты, а более крупные могут быть обработаны для получения срезов.

Рак пищевода по гистологическому строению в большинстве случаев относится к плоскоклеточным ракам, часто с орогованием; реже встречаются железистые и коллоидные раки, развивающиеся из слизистых желез пищевода.

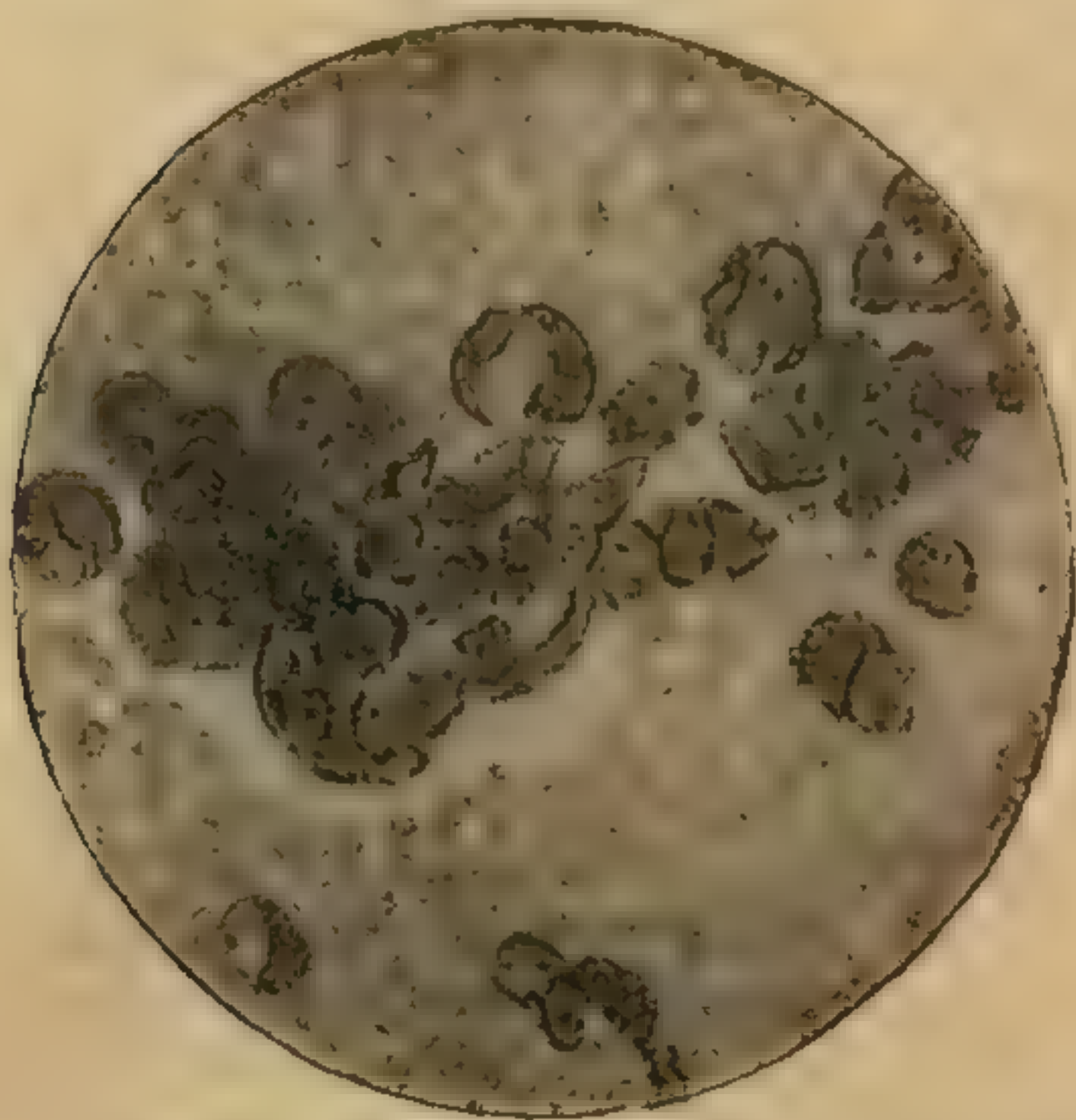
В нативных препаратах, приготовленных из отобранных частиц желудочного содержимого или обнаруженных в отверстии зонда, при наличии рака пищевода находят большее или меньшее количество атипического рака пищевода находят большее или меньшее количество атипического плоского эпителия, часто с орогованием, в виде стержней и луковиц (рис. 323). Нередко мелкие частицы рака содержат также волокнистую основу иногда с эластическими волокнами. Встречаются также некротические клочки опухоли, покрытые бактериями с бурым распадом кровяного пигмента и с незначительным количеством клеточных элементов.

В случаях железистого рака могут быть обнаружены элементы, характерные для этого вида опухоли, атипический эпителий, жирно и вакуольно перерожденный в виде округлых групп и железистоподобных образований в слизистых и плотноватых тканевых клочках.

В случаях кислого желудочного содержимого карциноматозные элементы могут подвергаться деструкции и обнаруживаются лишь в 20% случаев рака желудка, но только при отсутствии соляной кислоты в желудочном содержимом.



При изобретении  
взвешивания, как и в  
и также из раз-  
нородных животных  
плотных и  
рыхлых веществ.  
В остальном, то в  
ремени. В момент

[illegible]

A circular illustration of a globe, centered on the Americas. The continents of North and South America are clearly visible, surrounded by the Atlantic and Pacific Oceans. The title "THE AMERICAS" is written in a curved banner across the top of the globe. The illustration is rendered in a simple, stylized manner with a limited color palette.

Рис. 324. Резко атипический эпителий частью с жировой дегенерацией в волокнистой основе — в промывных водах желудка. Нативный препарат. Увеличение в 300 раз.

В соответствии с р  
обнаружены и ее эле  
значение в смысле ч  
имеет нахождение мел

При микроскопическом исследовании препаратов из желудочного содержимого и промывных вод желудка необходимо учесть возможность обнаружения метаплазированного эпителия желудка, что может представить известные затруднения при дифференциации этих элементов от раковых.

Необходимо также иметь в виду, что в желудочном содержимом нередко могут быть обнаружены мелкие, а иногда и более крупные частицы слизистой оболочки желудка, особенно при гипертрофическом гастрите. Микроскопически в нативных препаратах обычно имеется строение слизистой оболочки желудка, часто кровянисто инфильтрованный, с лимфоидной основой и типическими железами желудка. Нужно особо подчеркнуть, что в нативных препаратах

Нужно особо подчеркнуть, что в объектах, исходящих из органов с железистым строением (желудок, кишечник, матка), могут возникнуть затруднения при дифференциации клеточных структур гиперпластических и опухолевых процессов. Только резкая атипия клеточных комплексов и особенно наличие при этом соединительнотканых волокон, свидетельствующих о деструкции ткани, могут в этих случаях облегчить диагноз рака.



## ИССЛЕДОВАНИЕ МОЧИ

При исследовании мочи могут быть выявлены элементы новообразования, исходящие из опухоли мочевого пузыря, простаты, лоханок, почек, а также из рака матки и мужского полового члена (рис. 325). Карциноматозные элементы могут быть выявлены в осадке мочи, особенно в мелких плотноватых клочках и кровяных сгустках, обнаруживаемых как в осадке, так и при послойном осмотре мочи.

В мочевом пузыре чаще всего встречаются папиллярные фиброэпителиомы (папилломы) и папиллярные (сосочковые или ворсинчатые) раки. Реже встречаются мозговидные формы рака с резким полиморфизмом клеточных элементов, слизисто-коллоидные и железистые раки, исходящие из элементов простаты или из слизистых железок шейки пузыря, плоскоэпителиальные ороговевающие и неороговевающие раки.

Помимо первичных опухолей в мочевом пузыре, в стенку его может вращать рак из шейки матки, предстательной железы и прямой кишки. Эти раки инфильтрируют стенку мочевого пузыря и, проникая в его слизистую оболочку, легко изъязвляются и распадаются, а элементы этих опухолей выделяются с мочой (рис. 326).

В соответствии с наличием той или иной опухоли в моче могут быть обнаружены и ее элементы. Здесь, как и в других объектах, большое значение в смысле частоты обнаружения карциноматозных элементов имеет нахождение мелких частичек опухоли или клеточных комплексов.

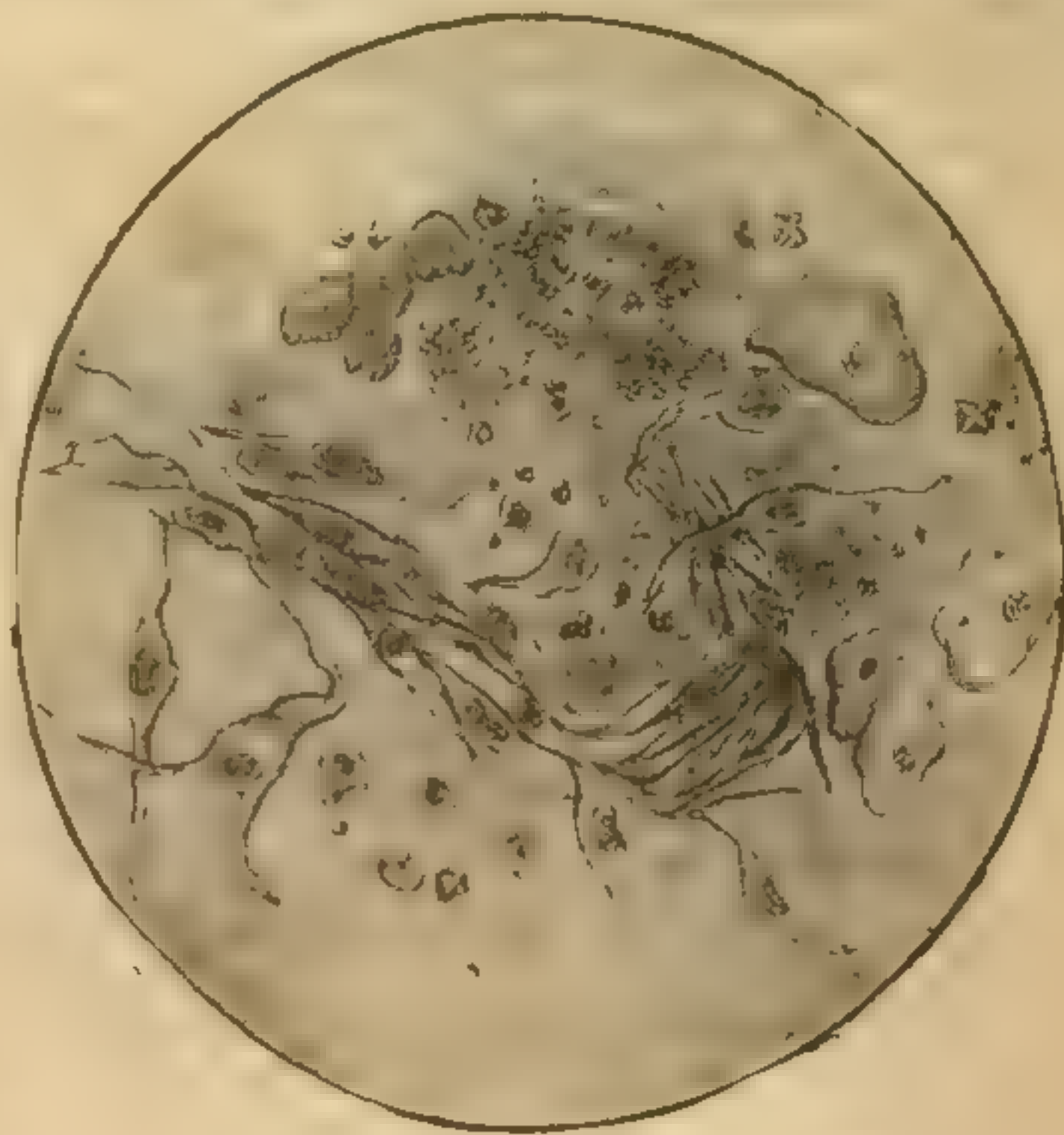


Рис. 325. Группы атипического эпителия в осадке мочи. Нативный препарат. Увеличение в 300 раз.

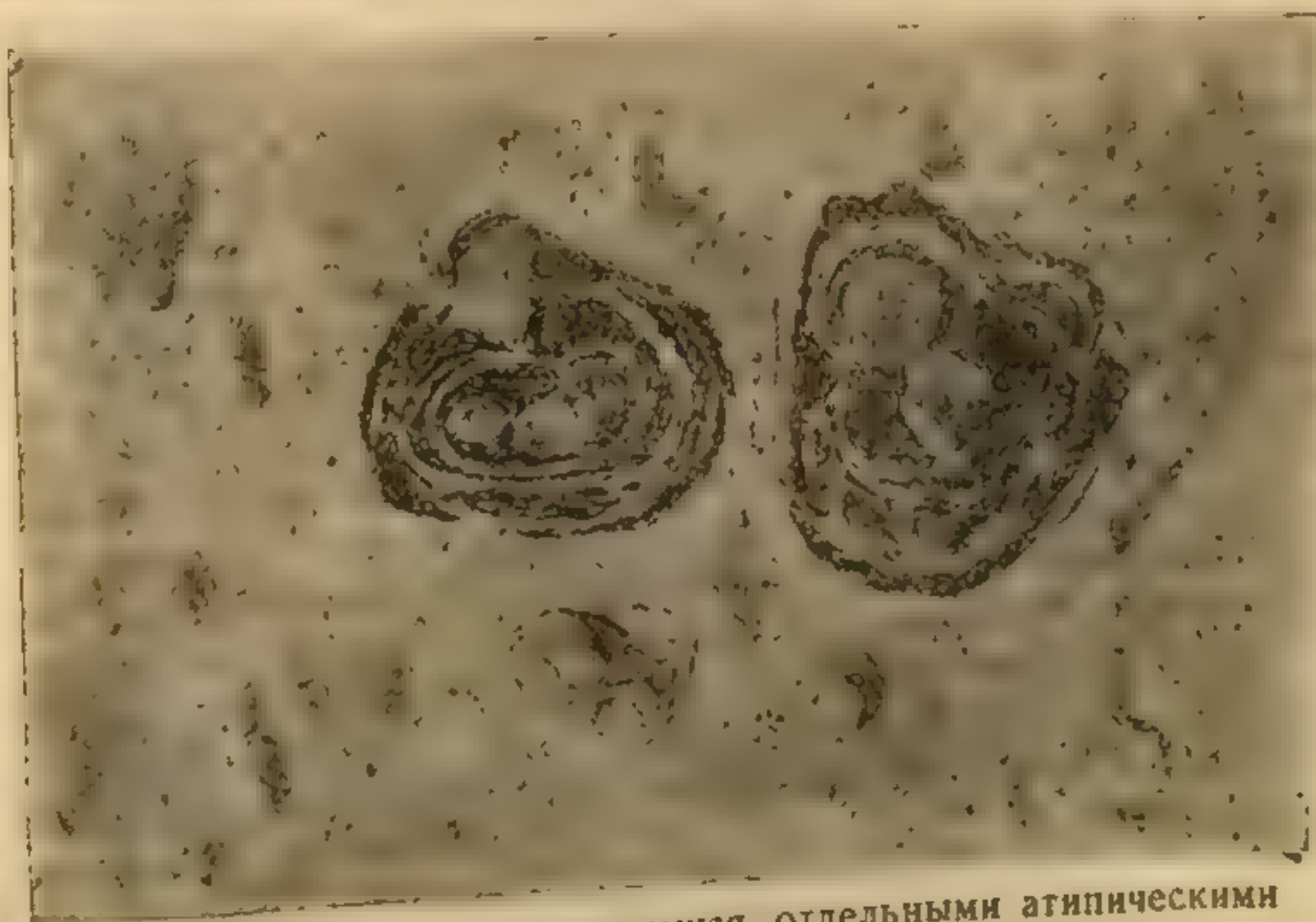


Рис. 326. Детрит с сохранившимися отдельными атипическими клетками, частью жирно перерожденными, и луковичами в мелком клочке из рака шейки матки. Нативный препарат. Увеличение в 300 раз.



В мелких клочках, исходящих из сосочковидного новообразования мочевого пузыря, обнаруживается волокнистая основа, иногда с эластическими волокнами, с наличием более или менее выраженных сосочков и скоплениями кровеносных капилляров.

Иногда клочки состоят лишь из сплетения капилляров. Наличие указанных элементов дает основание считать эти частицы исходящими из сосочкового новообразования. При наличии в такого рода клочках еще и скоплений атипического эпителия, часто жирно и вакуольно перерожденного, вопрос о принадлежности

этих образований к раковой опухоли сосочкового строения становится вероятным.

Обнаружение в моче элементов папилломы, папиллярного или других форм рака не дает основания для установления его локализации в мочеполовом тракте.

При опухолях мочевого пузыря, особенно злокачественных, почти всегда развивается цистит, часто резко выраженный, со щелочной мочой. В этих случаях необходимо исследовать свежеспущенную мочу, так как опухолевые элементы быстро разрушаются и делаются неузнаваемыми.

Исследование мочи также должно производиться до цистоскопии или через 6—8 дней после нее, так как эта манипуляция нередко травмирует слизистую оболочку моче-

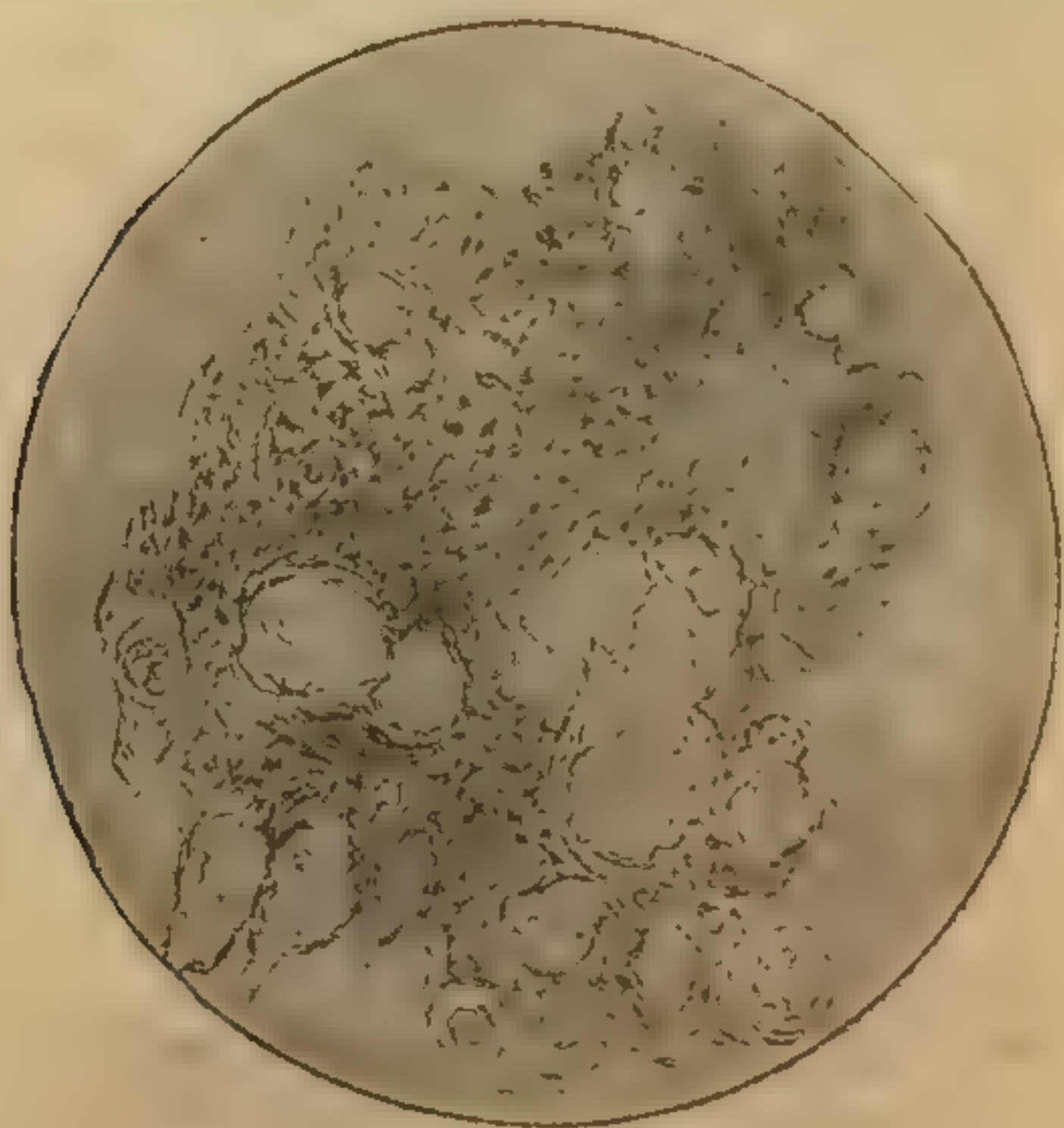


Рис. 327. Мелкий клочок с детритом и сохранившимися луковичками из плоского эпителиального рака, встречающийся в различных объектах. Нативный препарат. Увеличение в 300 раз.

вого пузыря. При этом в моче могут быть элементы, вызванные травмой (эритроциты, эпителий и др.), мешающие и затрудняющие исследование.

При опухолях мочевого пузыря тщательное макро-микроскопическое исследование мочи может почти всегда выявить соответствующие элементы их.

Из опухолей почек, встречающихся вообще довольно редко (около 2% всех злокачественных новообразований), самой частой является гипернефроидная опухоль (гипернефрома). Эти опухоли часто врастают в лоханку всей своей массой или в виде полипообразных отростков, склонных к регрессивным изменениям, кровоизлияниям и некрозам, рано вызывая гематурию. Поэтому элементы опухоли часто могут попадать в мочу.

По Эрлиху и Фришман, для гипернефроидной опухоли почек характерна триада элементов, которая при тщательном макро-микроскопическом исследовании мочи может быть почти всегда обнаружена. Элементы триады следующие: 1) кристаллы гематоидина, 2) атипические эпителиевидные клетки с жировой дегенерацией и 3) более или менее явственные тканевые клочки.

Из других опухолей почек реже встречаются раки, преимущественно аденокарцинома, элементы которой также могут быть обнаружены в моче.

При раке мужского полового члена, расположенного в месте, по которому проходит моча, распадающиеся частицы опухоли смываются ею и выявляются в виде клочков плоскоэпителиального ороговевающего рака (рис. 327).

ИССЛЕДОВАНИЕ  
В моче  
элементы  
эпителиального  
рака  
сосочкового  
строения  
Нативный  
препарат  
Увеличение  
в 300 раз



## ИССЛЕДОВАНИЕ ЖИДКОСТИ ИЗ СЕРОЗНЫХ ПОЛОСТЕЙ

В жидкости из плевры и брюшной полости могут быть обнаружены элементы злокачественных новообразований, главным образом метастатических, так как первичные опухоли этих локализаций встречаются чрезвычайно редко.

В жидкости из серозных полостей значительно легче обнаруживают элементы злокачественных новообразований, так как в силу постоянной десквамации в экссудат попадает значительно большее количество этих элементов, чем в другие объекты. В жидкости легче обнаружить эти элементы еще и потому, что их приходится дифференцировать только с мезотелием серозных оболочек.

Исследование жидкости производится так же, как и исследование мочи. Послойным осмотром определяется наличие каких-либо мелких клочков, из которых, как и из осадка, собранного после отстаивания и отцентрифугированного, готовят нативные препараты и микроскопируют. При наличии злокачественного новообразования в жидкости обычно находят значительное количество атипических клеток с жировым и вакуольным перерождением, с выраженным полиморфизмом (особенно при раковых опухолях). Нередко встречаются клетки с крупными вакуолями и оттесненным к периферии ядром — так называемые перстневидные клетки (рис. 328).

Особое значение для диагностики злокачественных новообразований имеют группировки и сочетания из атипических клеток. Характер клеточных комплексов зависит от гистологической структуры опухоли. В жидкости при карциномах встречаются резко ограниченные округлые группы железистоподобного, альвеолярного или сосочкового строения, реже в виде стержней, тяжей и лукозниц. В мелких клочках, исходящих из раковой опухоли, имеются также и другие тканевые элементы (волокна, капилляры и др.).

При наличии саркоматозного новообразования обнаруживаются главным образом однотипные атипические клетки в виде диффузных скоплений в волокнистой основе.

Для более детального изучения клеточных элементов просмотренные нативные препараты могут быть окрашены по Романовскому-Гимза и Паппенгейму (можно также одновременно готовить из центрифугата мазки и нативные препараты).

Ввиду того что в жидкости из серозных полостей клеточные элементы новообразования обычно находятся в значительном количестве и не смешаны с другими элементами, как в других объектах, они довольно легко обнаруживаются и в окрашенных мазках (рис. 329 и 330). Тем не менее макро-микроскопическое исследование жидкости позво-

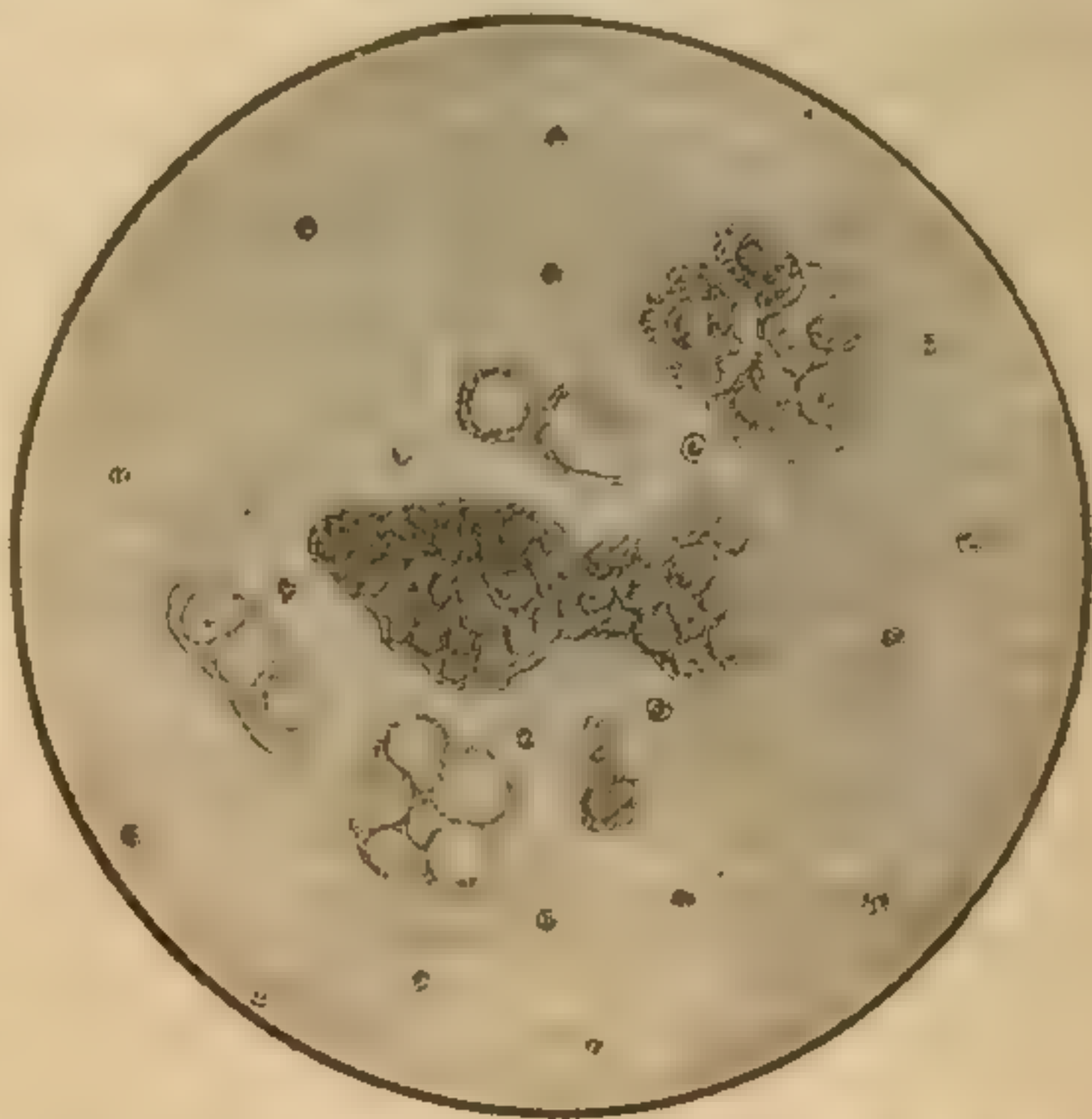


Рис. 328. Атипический эпителий с жировой дегенерацией и вакуолизацией отдельно и группами в асцитической жидкости при метастатическом раке желудка. Нативный препарат. Увеличение в 300 раз.



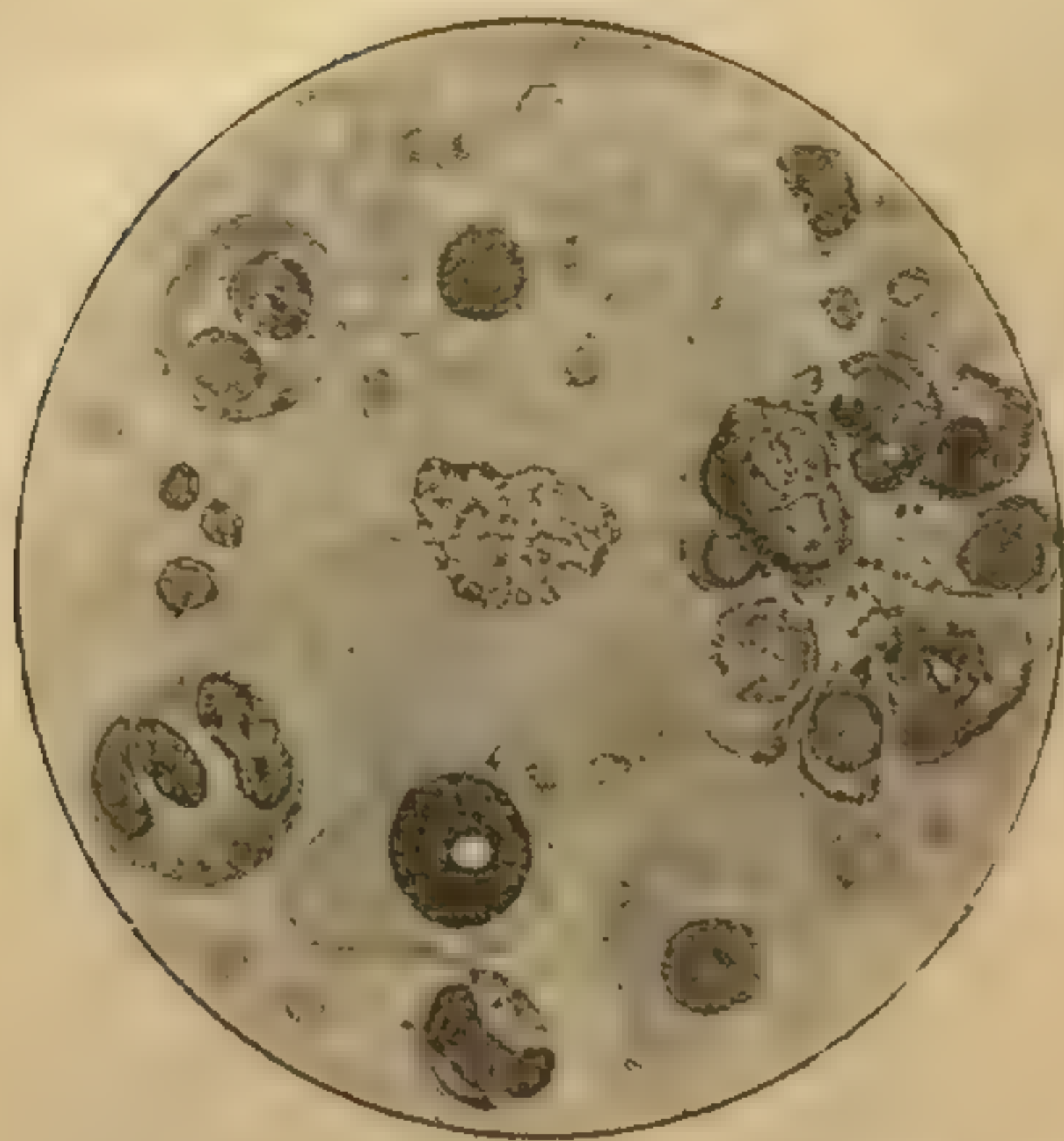


Рис. 329. Плевральная жидкость при метастатическом раке легкого. Резко атипичный эпителий отдельно и в виде округлой группы. Окраска по Паппенгейму. Увеличение в 630 раз.

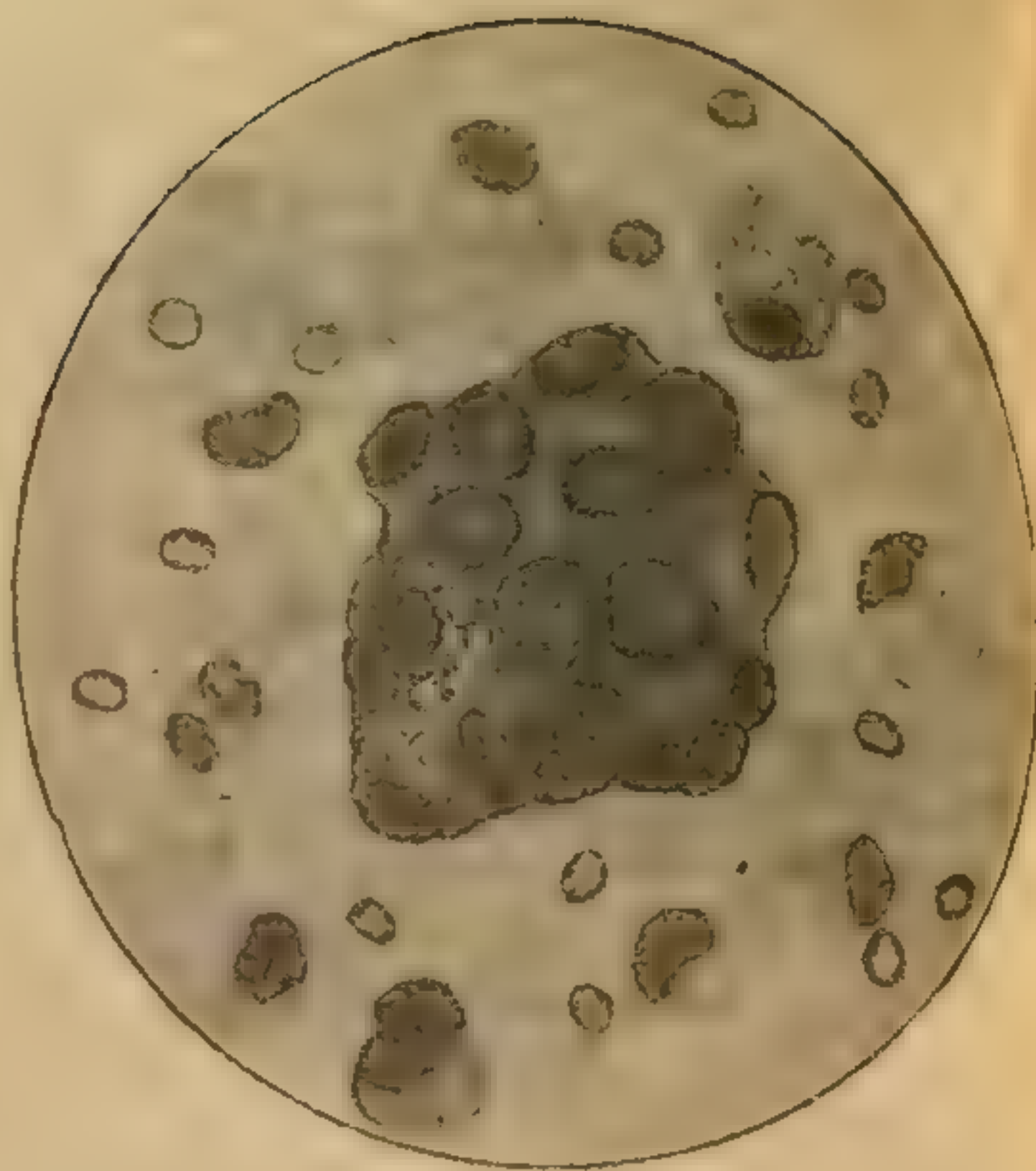


Рис. 330. Плевральная жидкость при метастатическом раке легкого. Округлая группа атипичного эпителия. Окраска по Паппенгейму. Увеличение в 630 раз.

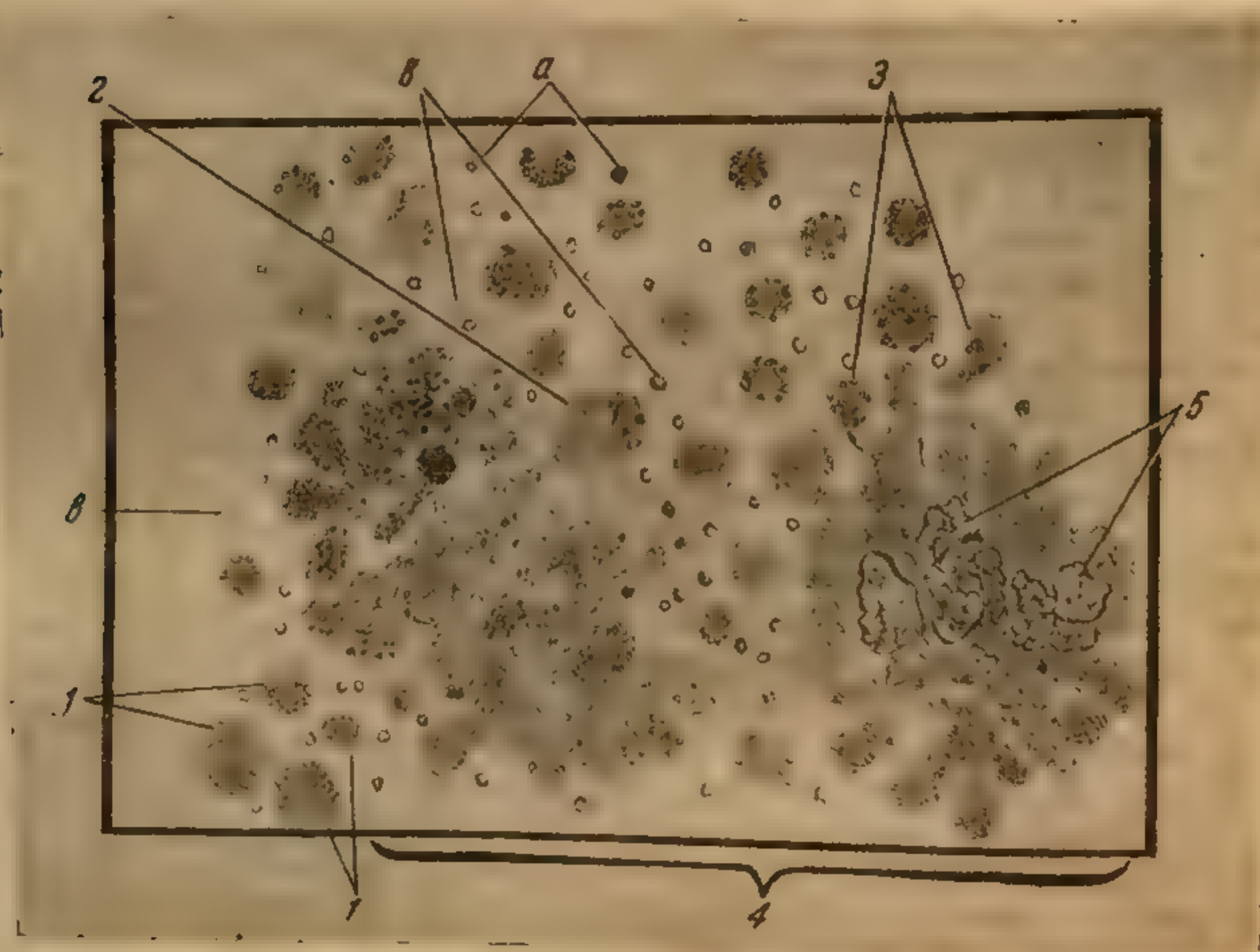


Рис. 331. Асцитическая жидкость при метастатическом псаммозном раке яичника. 1 — жиризернистые клетки; 2 и 3 — отдельный атипичный эпителий; 4 — округлые группы атипичного эпителия с резкой жировой дегенерацией; 5 — псаммозные тельца в центре округлых клеточных комплексов; а — красные тельца; б — белые тельца. Нативный препарат. Увеличение в 300 раз.



ляет выявить более обоснованные данные для диагностики злокачественных новообразований (клеточные сочетания и тканевые элементы). Нужно подчеркнуть, что наличие в жидкости отдельных клеточных элементов, иногда со значительными изменениями в их структуре, не позволяет делать заключения об их принадлежности к злокачественному новообразованию, так как эти изменения могут быть связаны с пролиферацией клеток неопухолевого характера и с различными физико-химическими влияниями (при застойных явлениях и токсикоинфекционных состояниях). Современные цитологические возможности еще не позволяют определить каждую отдельную клетку как исходящую из злокачественного новообразования. Только сочетание клеток вместе с другими морфологическими данными может способствовать лабораторному диагнозу злокачественного новообразования.

Следует указать, что преимущественно в асцитической жидкости, реже в плевральной, часто в нативных препаратах, обнаруживаются в центре округлых групп атипического эпителия слоистые известковые образования — псаммозные тельца (рис. 331). Такого рода образования встречаются почти исключительно при метастатическом раке из яичника (*cystocarcinoma papillare psammomatodes ovarii*). При пунктатах опухолей можно получить также ценные диагностические данные (рис. 332).

Обнаруженные нами элементы псаммозного рака в плевральной жидкости обычно оказываются метастазами рака в плевру из яичников.

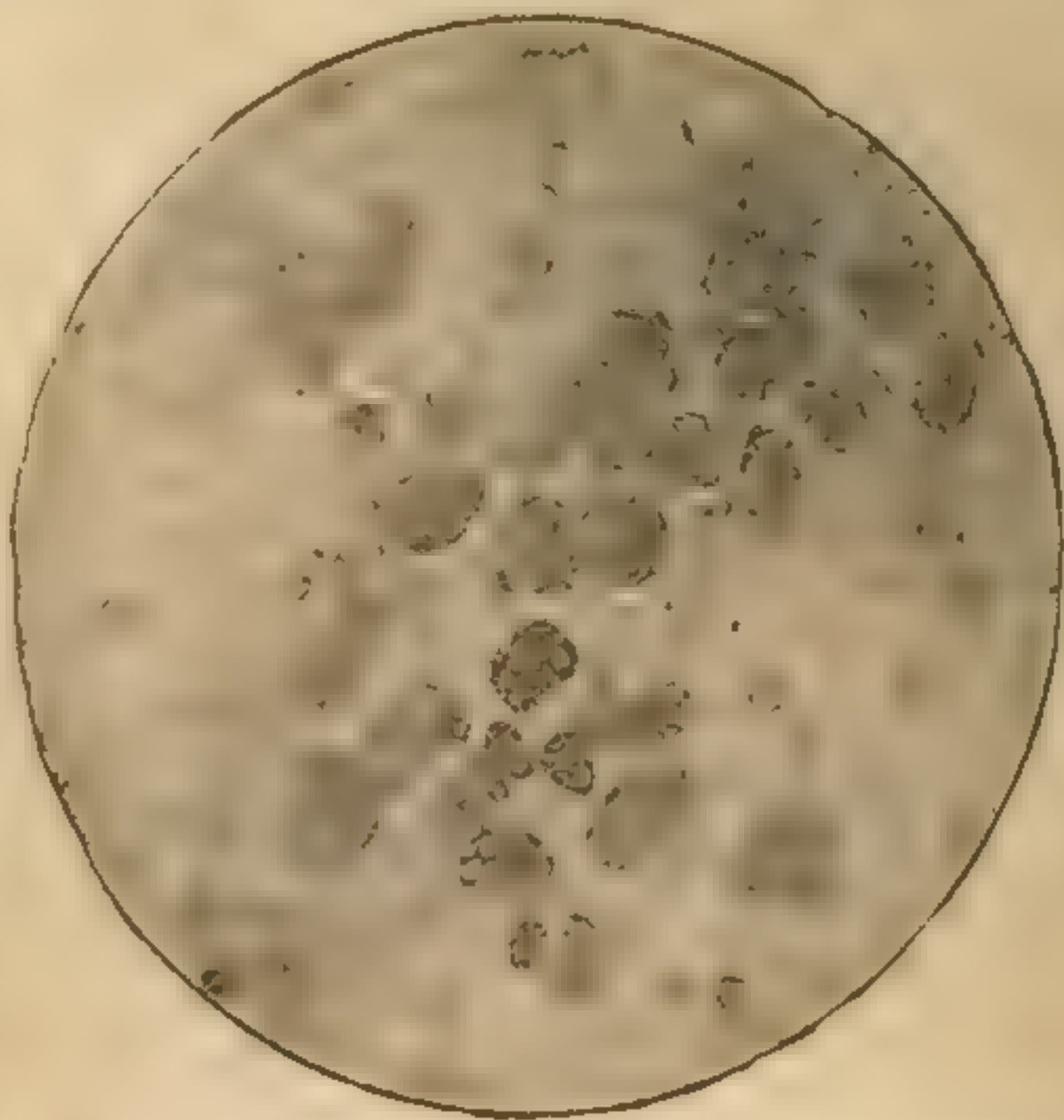


Рис. 332. Пунктат из опухоли. Саркома. Однотипные атипические клетки с большими ядрами и со многими ядрышками. Окраска по Паппенгейму. Увеличение в 630 раз.



## ОТДЕЛ ДЕСЯТЫЙ

# МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В КЛИНИКЕ

---

### ВВЕДЕНИЕ

Клиническая бактериология имеет специальные и характерные особенности. При проведении бактериологического исследования с эпидемиологической целью или для подтверждения диагноза инфекционного заболевания с выраженной симптоматикой требуется выяснить присутствие или отсутствие определенного возбудителя. В этом случае исследование ведется с целью выявления известного микроба; все остальные микробы, если они не связаны с инфекционными заболеваниями, оставляют без внимания как сопутствующие. Другой тип бактериологического исследования носит характер дифференциальной диагностики. В этом случае материал, доставляемый для исследования, изучается в разных направлениях, и обнаружение каждого микроба — патогенного, условно патогенного или ассоциации микробов — имеет диагностическое значение. Именно в эту категорию анализов относится комплексное исследование крови в начальном периоде лихорадочных заболеваний, исследование раневого отделяемого, гноя, или, наконец, исследование рвотных масс, пищевых продуктов и прочих материалов при пищевых токсикоинфекциях. В том и другом случае выявление возбудителя может стать решающим для диагноза в клинике; однако выполнение исследований второго типа требует от исполнителей широкого кругозора, большого опыта и умения правильно повести ход анализа. Здесь необходимо учитывать всех микробов, которые могут повлиять на течение болезненного процесса, и дифференцировать первичных возбудителей от вторичной инфекции.

В настоящем руководстве нет возможности изложить методы обнаружения и изучения всех известных микробов. Для целей клинической диагностики многие из этих методов не могут быть использованы; с другой стороны, выделение и идентификация ряда микроорганизмов должны проводиться в специально оборудованных лабораториях. Поэтому дальнейшее изложение касается тех микробов и способов их обнаружения, которые или часто встречаются в работе клинических лабораторий, или же должны быть знакомы каждому бактериологу.

### ГЛАВА ПЕРВАЯ

## ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ К МЕТОДИКЕ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Основой высокого качества работы бактериолога является хорошая подготовка к производству анализа. На первом плане стоят выбор и качество питательных сред, стерильность используемых предметов и асептичность работы.



## ПОСУДА И ЕЕ ПОДГОТОВКА

В работе бактериолога, кроме обычных цилиндров, колб, склянок для растворения и хранения реактивов, требуется специальная посуда: пробирки, пипетки, чашки Петри (рис. 333). Эти предметы употребляются обычно не только в чистом виде, но должны быть стерильны. Посуда, в которой содержался зараженный материал (объекты исследования, посевы), должна до мытья тоже стерилизоваться. При этом пользуются исключительно физическими методами стерилизации. Дезинфекция посуды химическими веществами (формалином, карболовым раствором и т. д.) абсолютно недопустима, так как даже следы дезинфицирующих веществ, остающихся на стекле, в дальнейшем задерживают рост микробов.



Рис. 333. Обычный инвентарь бактериологической техники.

Новую посуду следует до мытья прокипятить в слабом растворе (1—2%) соляной кислоты во избежание дальнейшего выщелачивания стекла. Мытье производится ершами с мылом и содой. После промывания в проточной чистой воде полезно ополоснуть все предметы дистиллированной водой, что предупреждает выпадение солевых осадков при высушивании. Высушенную в сушильном шкафу или на специальных досках с колышками посуду закрывают и завертывают в бумагу для стерилизации. В пробирки вставляют ватные пробки и по 5, 10 или больше штук завертывают в плотную бумагу. К чашкам Петри аккуратно подбирают крышки, и их тоже завертывают по одной или несколько штук в плотную бумагу. При большом расходе этих предметов их можно стерилизовать не в бумаге, а в биксах, употребляемых для стерилизации хирургического материала.

Градуированные и простые пипетки затыкают ваткой в том конце, который берут в рот. Комочек ваты не должен быть очень плотным, но и не должен свободно двигаться в пипетке. Волокна ваты не должны торчать из-за края, так как они не дадут плотно зажать пипетку пальцем. Готовые пипетки по одной или несколько штук завертывают в бумагу или укладывают в специальные коробки (биксы).

Заготовленную таким образом посуду подвергают стерилизации.

## АППАРАТУРА И ОБРАЩЕНИЕ С НЕЙ

Работа в бактериологической лаборатории не может вестись без некоторых аппаратов. К таким абсолютно необходимым предметам аппаратуры относятся стерилизационные аппараты (автоклав, текуче-паровой аппарат; сушильный шкаф, аппарат для свертывания сыворотки), термостаты и микроскоп с иммерсионной системой.



1) Приборы для стерилизации. В автоклаве (рис. 334) стерилизуют обычно при завинченной наглухо крышке под давлением до 1 атм (сверх нормальной воздушной), что соответствует температуре  $120^{\circ}$ . Таким образом стерилизуются в течение 15—20 минут: 1) зараженная посуда и прочие материалы, 2) приборы, особенно имеющие резиновые части, 3) питательные среды, не содержащие белковых и углеводных примесей. При 0,5 атм, соответствующей  $112—115^{\circ}$ , стерилизуют некоторые питательные среды в течение 15 минут.



Рис. 334. Автоклав.

Если не завинтить крышку автоклава и оставить открытыми краны для спуска воздуха и пара, то после закипания воды в автоклаве температура будет  $100^{\circ}$ , и он заменит в этом случае аппарат для текучепаровой стерилизации (рис. 335).

Текучим паром стерилизуют такие материалы, которые разлагаются или портятся при стерилизации под давлением: некоторые питательные среды, растворы углеводов и т. п. Стерилизацию проводят в течение 30 минут с момента появления пара, повторяют 3 дня подряд и называют дробной. При этом методе убиваются только вегетативные формы бактерий; споры переживают, но они прорастают в течение первых и вторых суток, и образовавшиеся вегетативные формы убиваются на 2-й—3-й день.

Сушильным шкафом пользуются для стерилизации стеклянной посуды, игловок для шприцев и других предметов, которые не портятся от су-

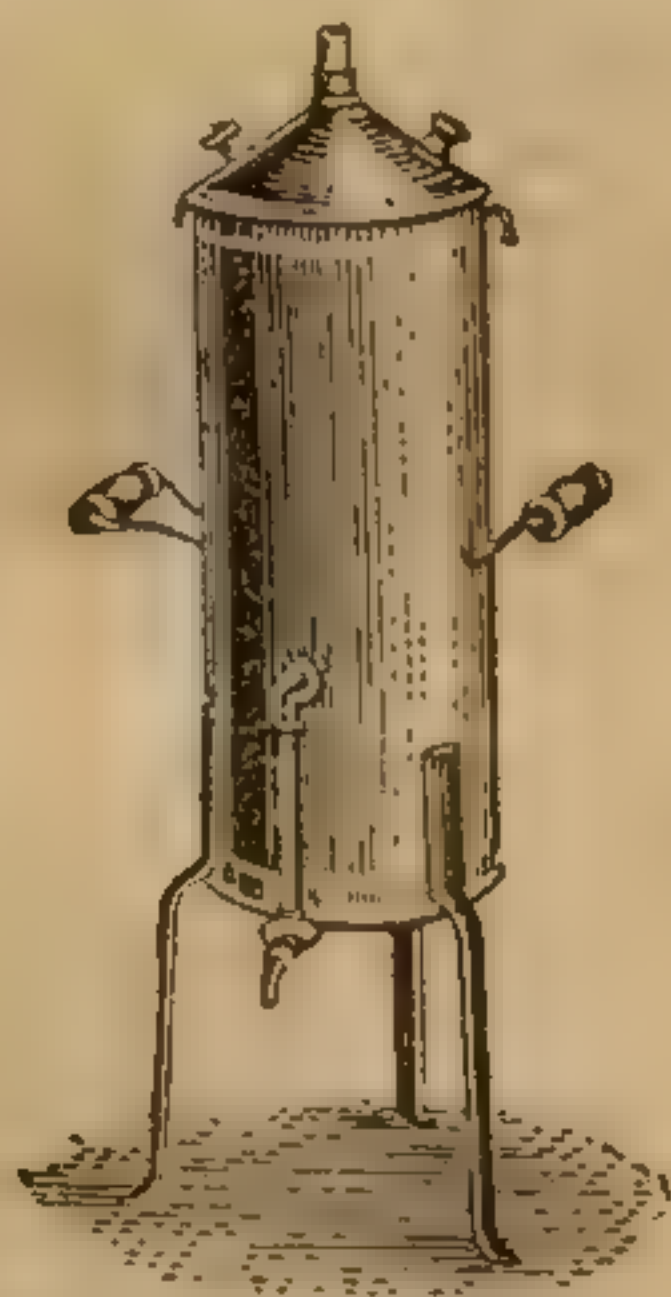


Рис. 335. Текучепаровой аппарат.

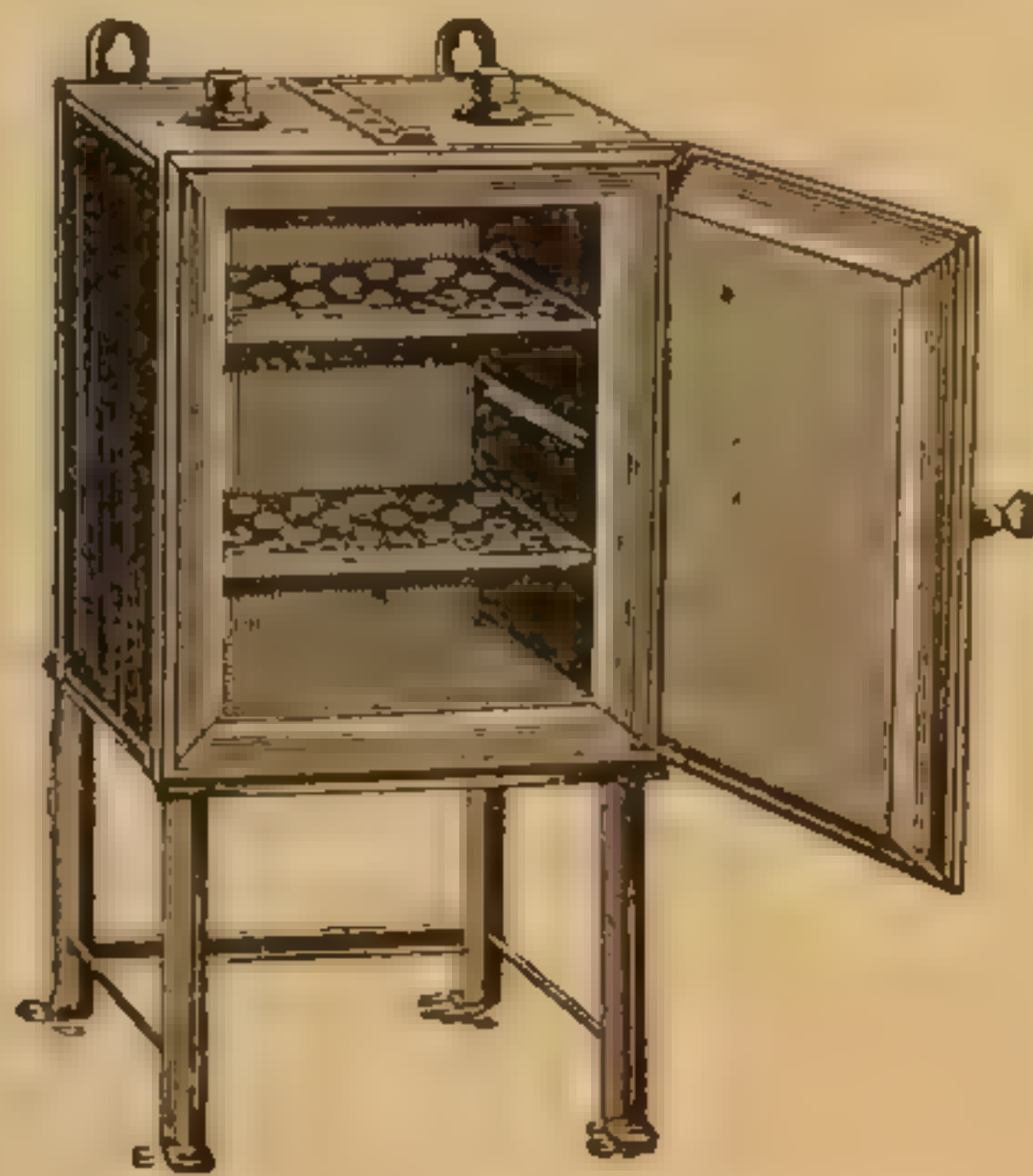


Рис. 336. Сушильный шкаф.

хого жара (рис. 336). Стерилизация продолжается 45 минут—1 час при  $160—170^{\circ}$ . При температуре, превышающей  $175^{\circ}$ , сгорает бумага и вата. Для контроля правильной работы стерилизационных аппаратов в середину их можно закладывать специальные тесты—запаянные ампулы,



содержащие химические вещества, которые плавятся при соответствующей температуре.

При суховоздушной стерилизации можно пользоваться сахарозой или обычным сахарным песком, который плавится и карамелизуется при  $170^{\circ}$ . Для проверки температуры внутри автоклавов в ампулы помещают небольшое количество одного из приведенных ниже веществ, к которому при-мешано несколько крупинок краски (фуксина, метиленовой синьки и т. п.).

Следующие вещества обычно используются для приготовления тестов: бензонафтол (плавится при  $110^{\circ}$ ), антипирин (плавится при  $113^{\circ}$ ), резорцин (плавится при  $119^{\circ}$ ), сера (плавится при  $119^{\circ}$ ), бензойная кислота плавится при  $120^{\circ}$ ).

**2) Инструкция по суховоздушной стерилизации.** 1. Суховоздушной стерилизации подлежат исключительно сухие предметы (посуда, перевязочный материал и др.).

2. Стерилизация производится при температуре в  $160-170^{\circ}$  в течение  $1-1\frac{1}{2}$  часов.

3. Перед началом стерилизации надо вытереть влажной тряпкой, а затем насухо наружную и внутреннюю поверхность приборов, проверить, цел ли термометр, а также в порядке ли рубильник и провода или (в случае газа) горелки и трубки.

4. Закладка материалов производится совершенно свободно, чтобы материал по возможности не касался горячих стенок прибора и чтобы горячий воздух свободно проникал в центральную часть прибора, заполненного стерилизуемыми предметами.

5. После закрытия дверок заполненного прибора включают ток или подставляют горелку (под середину дна прибора) и следят от времени до времени за подъемом температуры. Этот подъем должен происходить в течение 10—12 минут. Когда температура поднимается до желаемого предела, за термометром следят каждые 5—10 минут и путем регулировки обогрева держат температуру на нужной высоте в течение необходимого времени; затем выключают отопление и дают остыть прибору до температуры  $50^{\circ}$ , после чего отворяют дверцы и вынимают стерилизуемые предметы. Бумага и пробки ни в коем случае не должны быть обуглены, пахнуть дымом; они могут слегка пожелтеть и издавать легкий запах карамели (после воздействия температуры не ниже  $160^{\circ}$ ).

**3) Инструкция по стерилизации текучим паром.** 1. В качестве прибора для стерилизации текучим паром служит или специальный котел (аппарат Коха), или автоклав. В последнем случае автоклав закрывается не так плотно, как при стерилизации под давлением (например, через один барашек); кроме того, краны, выпускающие пар, должны быть постоянно целиком открыты. Стрелка манометра вследствие этого не должна подниматься.

2. Перед работой проверяют чистоту прибора, целостность термометра, пригодность отопительной системы (горелки, рубильники). После этого в котел наливают воду, количество которой определяется или по водомерному стеклу, или исходя из объема котла. Ни в коем случае вода не должна быть в том пространстве котла, где находятся стерилизуемые предметы. После заполнения водой аппарата в него свободно кладут предметы, подлежащие стерилизации, так чтобы пар свободно обтекал их. Предметы не должны занимать пространство больше  $\frac{3}{4}$  вместимости аппарата. После этого крышку прибора закрывают и приводят в действие отопительные приборы.

3. Подогревание воды до состояния пара происходит в течение 10—15 минут. Отмечают время выхода из крана полной струи (со свистом)



пара. Это указывает на начало стерилизации. Отмечают время и спустя необходимый период ( $1\frac{1}{2}$ — $3\frac{3}{4}$  часа) выключают горелки; открывают крышку, дают прибору слегка охладиться и во избежание излишнего увлажнения вынимают еще горячие стерилизованные предметы из прибора.

После окончания работы аппарат должен быть освобожден от воды и содержаться в сухом состоянии.

#### 4) Инструкция по стерилизации в автоклаве под давлением.

1. Автоклавы для работы под давлением должны иметь котел, наружный кожух и внутреннюю рубашку, воронку с краном для воды, толстое водомерное стекло, краны для выпуска пара, предохранитель с противовесом и манометр. В некоторых автоклавах на выходном (нижнем) кране имеется также термометр. Автоклав должен закрываться плотной крышкой, завинчивающейся 6—10 барашками с нарезкой; между крышкой и стенками котла должна быть резиновая прокладка.

Перед работой должны быть проверены: 1) состояние барашков и резьбы на них; 2) целостность водомерной трубки; 3) пригодность манометра: стрелка должна стоять на 0, стекло цело; 4) хорошая притертость кранов; 5) целостность и упругость резиновой прокладки под крышкой.

Через воронку наливают воду (можно теплую) в котел, следят по водомерному стеклу за количеством воды (оно должно быть не больше  $\frac{3}{4}$  и не меньше  $\frac{2}{8}$  объема котла). После этого закрывают кран под воронкой, затем загружают автоклав предметами, подлежащими стерилизации (загрузка не должна быть плотной), закрывают крышку, завинчивают доотказа барашки (крест-накрест) и приводят в действие отопительную систему (горелки, рубильники). При газовом отоплении автоклава необходимо следить, чтобы горелка обогревала равномерно днище котла, и во всяком случае избегать, чтобы горелки высывались через край и согревали бы кожух (в таком случае могут распаяться места соединения кранов и водомерного стекла с котлом). Краны для выхода пара должны быть открыты.

Когда вода закипит, пар выходит из верхнего крана вместе с воздухом. Этот пар влажный и оставляет на подставленной ладони капельки влаги. Когда пар вытеснит воздух из автоклава, он пойдет через паровой кран полной свистящей струей (сухой пар); в этот момент закрывают кран. У большинства автоклавов имеется второй паровой кран, который расположен в нижней части котла — у его дна. Через этот кран после закрытия верхнего вытесняется остаток воздуха на дне котла. Так же как и верхний, нижний кран перекрывают, когда из него пойдет струя пара, не содержащего влаги. После этого стрелка манометра начинает двигаться; отмечают время, когда стрелка дойдет до нужной высоты (0,5—1 атм сверх воздушной) и регулируют горелки так, чтобы заданное давление держалось в течение необходимого времени. Если в автоклаве имеется термометр, отмечают его показания в начале и конце стерилизации. Предохранитель во время работы автоклава не должен выпускать пара.

По окончании стерилизации выключают горелки, дают остыть автоклав до того момента, когда стрелка манометра спустится до 0; тогда открывают паровой кран, отвинчивают барашки и открывают крышку автоклава<sup>1</sup>. Полезно при полукрытой крышке оставить предметы в автоклаве в течение 5 минут для обсушки.

По окончании работы вся вода из автоклава должна быть вылита, и он должен содержаться в сухом состоянии.

<sup>1</sup> Если стерилизуется посуда, можно, не ожидая охлаждения, спустить пар через кран. При этом рекомендуется надеть на кран резиновую трубку и опустить конец ее в сосуд с холодной водой, чтобы не наполнять помещения паром.



5) Свертыватель Коха (рис. 337). Свертыватель представляет собой плоский металлический ящик с двойными стенками, между которыми находится вода. Снизу ящик подогревается горелкой или электрообогре-

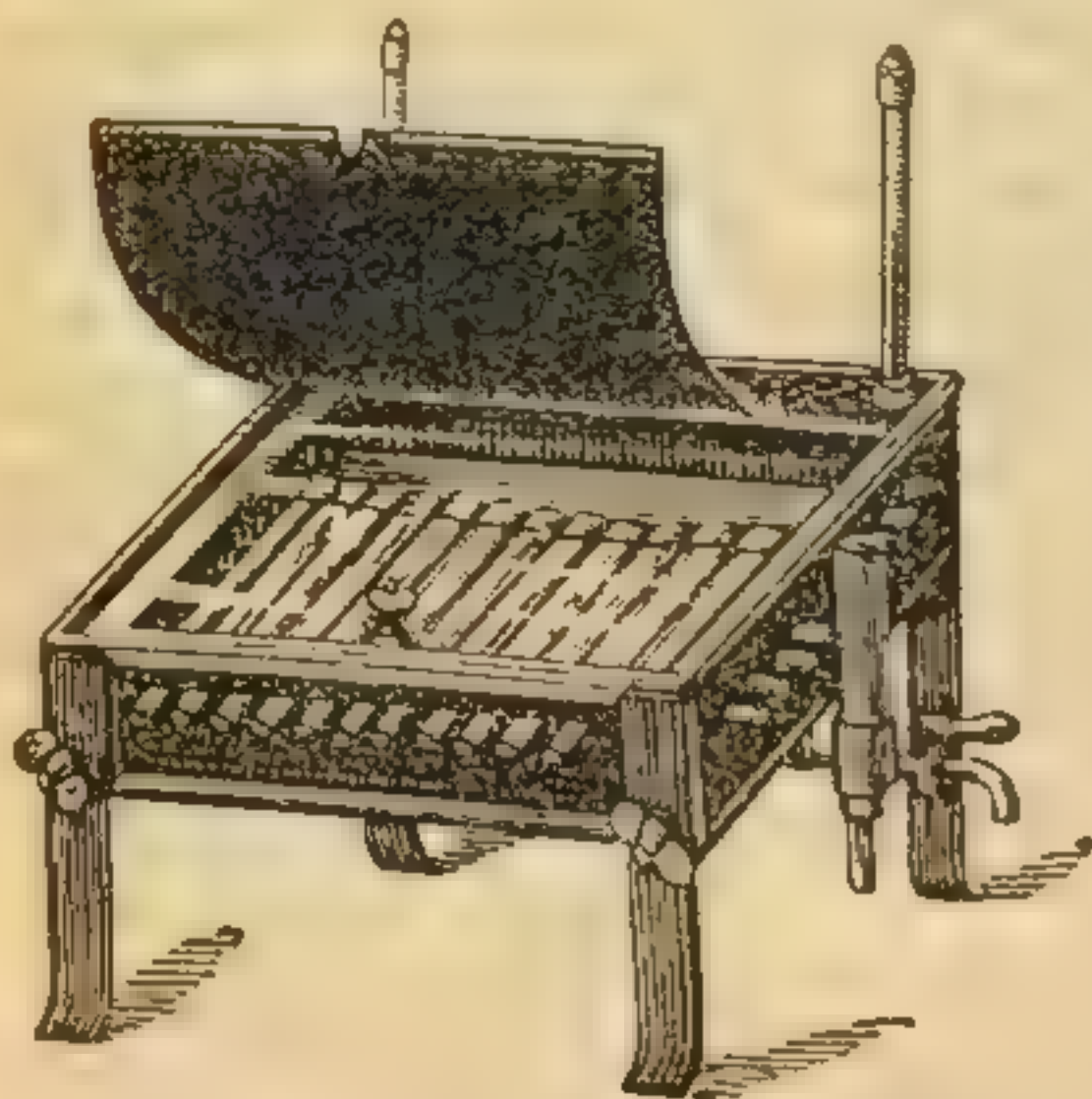


Рис. 337. Свертыватель Коха.

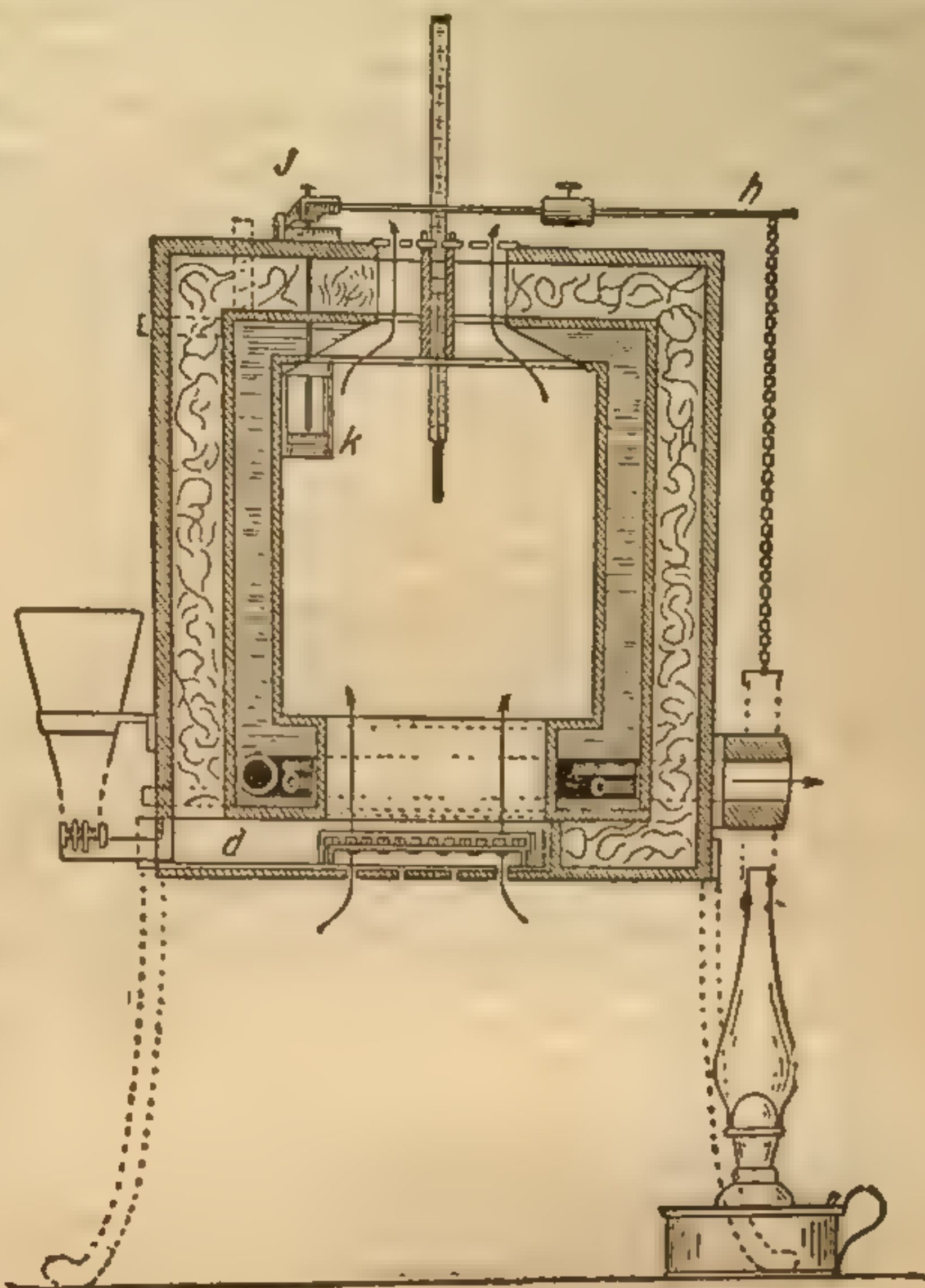


Рис. 338. Термостат керосиновый.

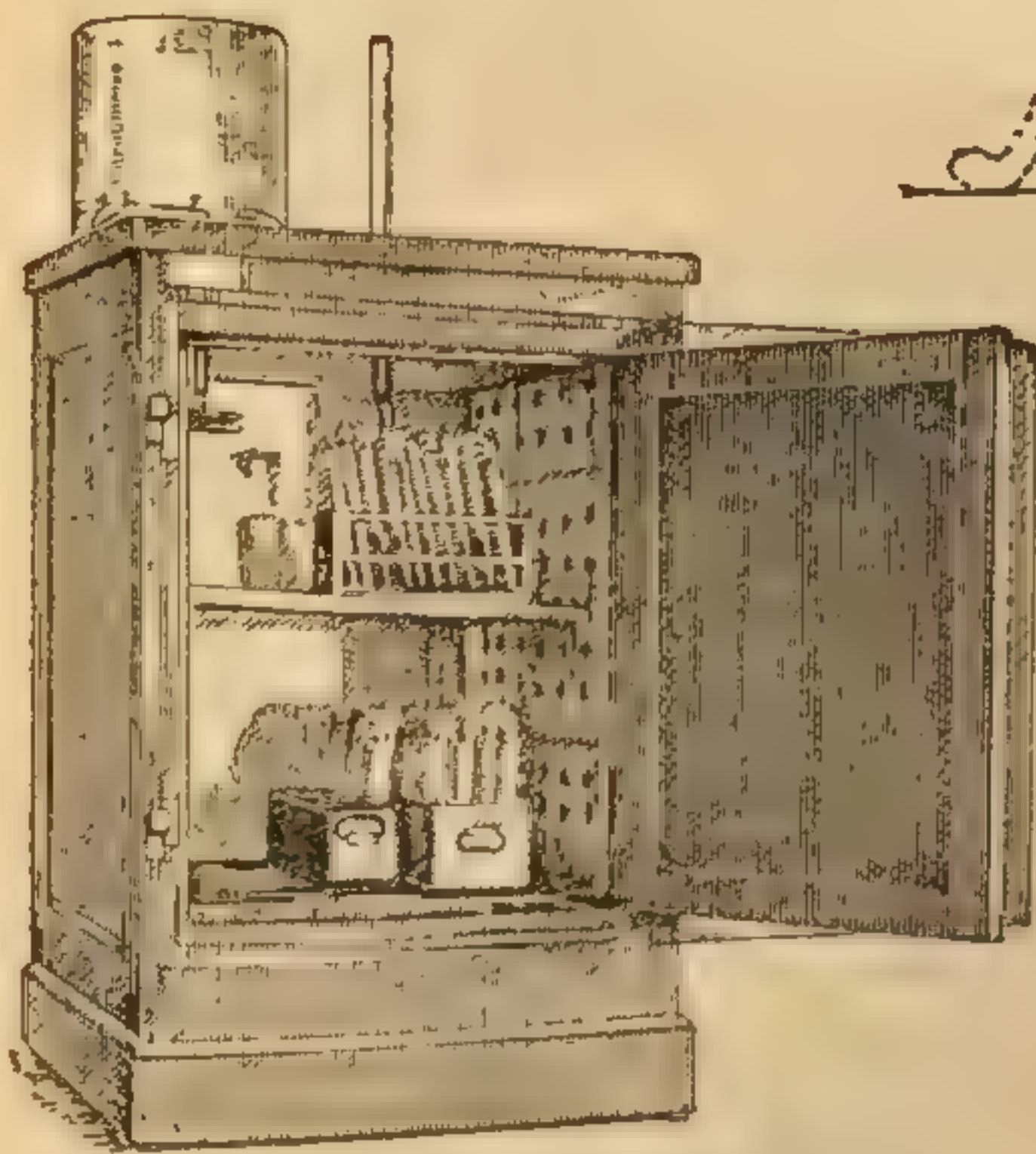


Рис. 339. Термостат электрический.

вом. В пространство между стенками ведут два отверстия: через одно из них наливают воду и закрывают его пробкой, через другое вставляют термометр. Крышка двойная: внутренняя стеклянная, наружная теплоизолирующая. Аппарат устанавливают в наклонном положении, приблизительно под углом в  $20-30^\circ$ . В него кладут пробирки с питательной средой (кровяная сыворотка, яичные среды). Свертывание производят при температуре  $85-90^\circ$ .

#### 6) Термостат (рис. 338 и 339).

Выращивание микробов, т. е. размножение их на питательных средах, требует постоянной благоприятной температуры окружающего воздуха. Для патогенных бактерий такой температурой по большей части является температура человеческого тела, т. е.  $37^\circ$ . Необходимые температурные условия создаются в специальном приборе — термостате, который устроен так, чтобы он мог сохранять определенную температуру.



Независимо от размеров, которые могут быть различными, термостат представляет собой шкаф с двойными стенками — внутренними металлическими и наружными деревянными или тоже металлическими. Для сохранения тепла наружная стенка может быть обита снаружи или обложена внутри теплоизолирующим материалом — асбестом, пробкой и др. В зависимости от системы прибора, между стенками может быть налита вода или проложен слой изолирующего материала, или помещены трубки, через которые проходит нагретый воздух, или, наконец, расположены нагревательные спирали электропроводки. Дверки в хорошо устроенном термостате бывают двойные; внутри шкафа имеются съемные полки из сетки или решетки,

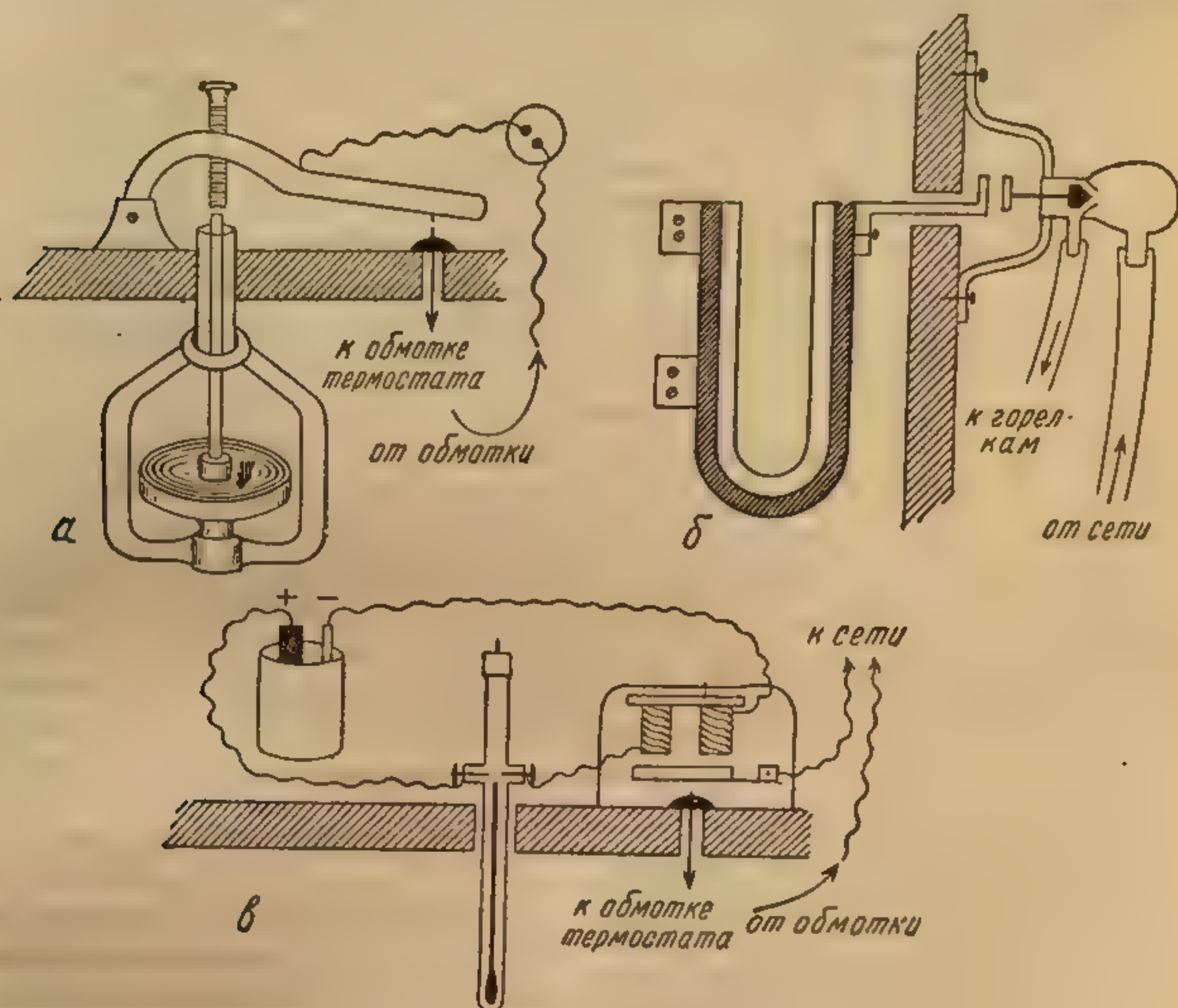


Рис. 340. Схемы терморегуляторов.

*a* — подушечный терморегулятор; *б* — биметаллический терморегулятор; *в* — контактный термометр.

которые не мешают обмену воздуха. Последнее условие необходимо для того, чтобы термостат не только удерживал заданную температуру, но чтобы в различных его частях температура была одинаковой.

Автоматическая регуляция температуры в термостатах достигается при помощи терморегуляторов (рис. 340). Устройство их обеспечивает автоматическое выключение источника тепла при нагревании термостата выше заданной температуры и включение — при температуре ниже необходимой. Системы терморегуляторов разнообразны. Принцип их конструкции почти во всех случаях основан на расширении различных веществ при нагревании. Наиболее распространенным в СССР является подушечный терморегулятор. Он состоит из низкой коробочки, сделанной из гофрированной латуни, в которую налиты различные жидкости, в зависимости от температуры, для установки которой предназначается подушечка. Подушечка укрепляется на специальной подставке, которая устанавливается внутри



термостата. В специальное углубление в подушечке вставляется стержень, который пропускается через отверстие в крышке термостата и другим концом упирается в рычаг. При нагревании термостата выше требуемой температуры пары жидкости расширяют подушечку, стержень поднимает рычаг, и происходит размыкание контактов электропроводки, или уменьшение притока газа к горелкам, или прекращение доступа нагретого воздуха от керосиновой лампы (в зависимости от способа нагрева термостата). Стержень, направляющийся от подушечки, упирается не в самый рычаг, а в специальный винт, который можно вращать рукой и таким образом включать и выключать обогрев произвольно. При помощи этого винта и производят первоначальную установку регулятора. Установив регулятор на нужной температуре так, что колебания температуры в термостате не превышают  $0,5^\circ$  в одну и другую сторону, его больше не трогают.

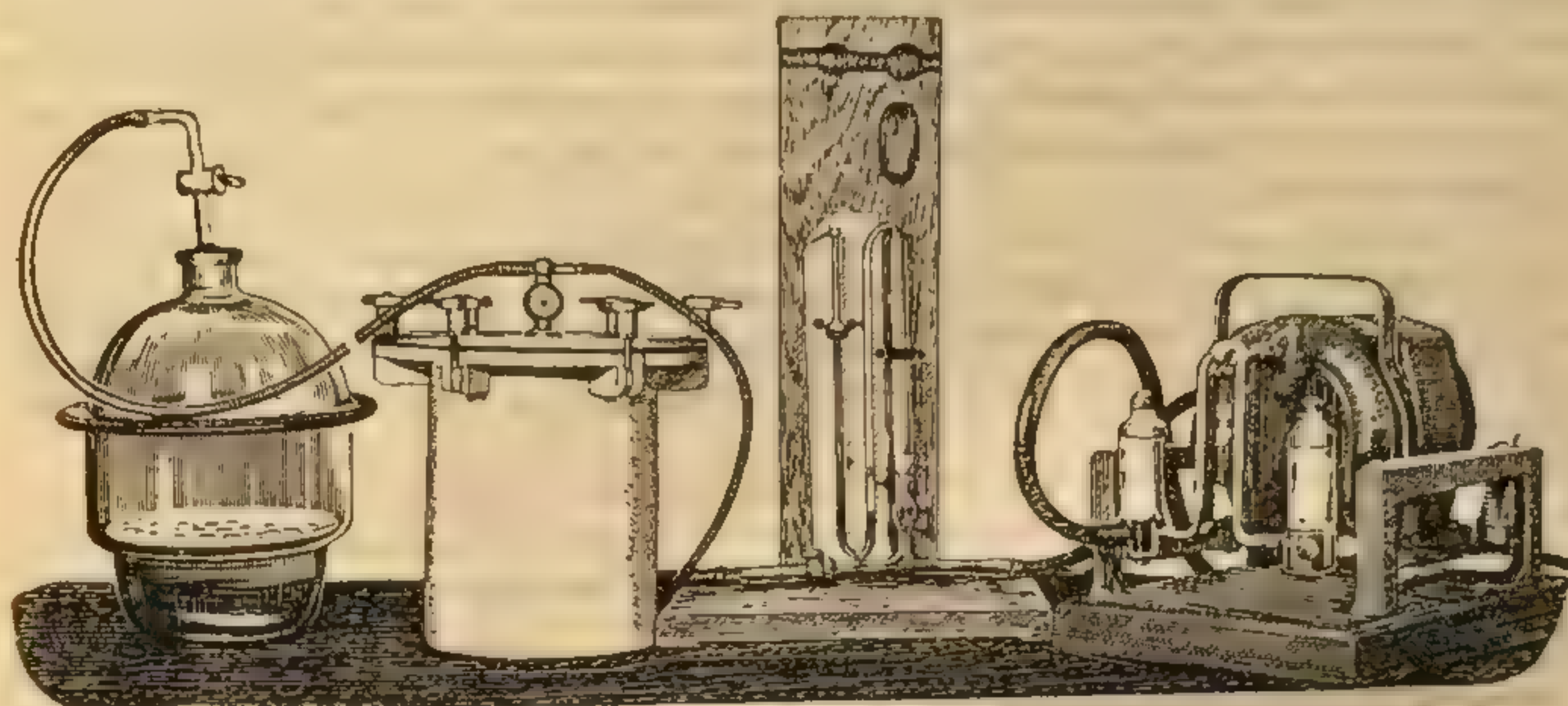


Рис. 341. Анаэроstat и эксикатор (с манометром и мотором).

Весьма полезно во избежание случайных толчков покрыть наружную часть регулятора стеклянным колпаком. Если термостат работает плохо, то надо проверить, не повреждена ли подушечка. Часто причиной отсутствия тока в электрических термостатах является загрязнение контактов или разъединение проводников. Эти мелкие повреждения легко исправить.

7) Анаэроstat (рис. 341). Анаэроstat употребляется для выращивания анаэробов и в простейшей форме представляет собой прямоугольную или цилиндрическую металлическую коробку, одна из узких сторон которой имеет крышку на резиновой прокладке.

Коробка снабжена металлическим краном, присоединяющимся к насосу. Пробирки и чашки с посевами помещают в коробку, воздух из коробки выкачивают насосом. Для культивирования строгих анаэробов достаточно снизить давление до 1 мм. После выкачивания воздуха кран закрывают и коробку помещают в термостат.

Имеются новейшие системы анаэроstatов, в которых соединен принцип термостата с выкачиванием воздуха. Такой аппарат включают в электрическую сеть, устанавливая необходимую температуру, в него помещают посе́вы и аппарат герметически закупоривают. При помощи крана аппарат присоединяют к насосу и из него выкачивают воздух под контролем манометра. После выкачивания закрывают кран и оставляют посе́вы в аппарате нужное время.



## ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

1) **Общие замечания к приготовлению питательных сред.** Питательные среды являются искусственно созданными субстратами, на которых микробы размножаются вне организма. Следует учесть, что микробы, выделяемые из организма, подвергались влиянию защитных сил макроорганизма (например, иммунных тел и т. д.), а иногда и действию лекарственных веществ, что не может не отразиться на их жизнеспособности.

Питательные среды поэтому должны создать оптимальные условия для роста и размножения бактерий. Чтобы микробы могли расти и размножаться, нужно их обеспечить: 1) теми веществами, из которых они могут построить свою протоплазму, и 2) веществами, которые доставляют микробам энергию. Для этого в питательные среды должны входить азотистые вещества (продукты распада белков), а также углеводы. Кроме того, бактериям необходимы вода и соль. Последняя служит как для построения протоплазмы, так и для создания необходимых для жизни физико-химических условий среды. Помимо этого, на жизнь и функцию большинства бактерий влияет присутствие дополнительных факторов роста (витамины и др.).

Разнообразные потребности отдельных видов микробов обуславливают большое разнообразие питательных сред. Для многих видов бактерий существуют специальные среды, так как химический состав микробной клетки в основном зависит от того субстрата, на котором она находится.

Основой всех питательных сред всегда являются вещества, содержащие азот. Источником этих веществ являются белки животного происхождения (из мяса, рыбы, плаценты, кровяных сгустков, казеина), белки дрожжей, равно как и другие белки растительного происхождения (из соевых бобов, гороха, ячменя и т. д.). Нативные белки усваивают только немногие бактерии — строгие паразиты (например, дифтерийная палочка, гонококки и др.). Необходима какая-то степень дробления белковой частицы, чтобы большинство микробов ее ассимилировало.

Существует два способа приготовления основного питательного бульона: 1) прибавление к мясному экстракту готового сухого пептона, который представляет собой смесь разнообразных частиц распада белка, не свертывающихся при нагревании (альбумозы, пептоны, полипептиды, аминокислоты); это так называемый мясо-пептонный бульон; 2) более тонкое дробление белков обрабатываемого сырья при помощи ферментов — трипсиновый перевар (бульон Хоттингера) (см. ниже).

Состав аминокислот в среде имеет громадное значение. Он влияет даже на сбраживание углеводов. По аминокислотному составу наиболее полноценны те питательные среды, которые содержат в достаточном количестве триптофан.

Для хорошего роста большинства микробов необходимо содержание в 100 см<sup>3</sup> бульона не менее 250—300 мг общего азота при наличии в этом количестве аминокислот (аминоазота) в среднем в пределах 25—30%.

В синтетических средах, составляемых из химических препаратов, в качестве источника азота служат различные аминокислоты и соли аммиака.

Помимо источников азота и углерода, в питательных средах имеют большое значение также определенные физико-химические константы: реакция и буферность среды, вязкость и т. д.

а) **Реакция сред.** Полуфабрикаты питательных сред (мясная вода, дрожжевой аутолизат) имеют обычно кислую реакцию; мясные,



кровяные и особенно казеиновые перевары ближе к нейтральной или слабо щелочной реакции, однако почти никогда не достигают той концентрации рН, которая необходима для роста бактерий на питательных средах. Поэтому все изготовляемые среды приходится подщелачивать.

Титрование, т. е. приведение к нейтральной реакции при обычных индикаторах, например, с лакмусом, фенолфталеином, устанавливает лишь потенциальную кислотность и ничего не говорит о концентрации свободных водородных ионов. Между тем для микроорганизмов и для тех биологических процессов, которые совершаются на искусственной питательной среде, важна истинная реакция, которая определяется концентрацией актуально существующих свободных водородных или гидроксильных ионов. Для характеристики реакции питательной среды пользуются определением концентрации водородных ионов или рН среды. Для большинства бактерий рН среды устанавливается в пределах 6,8—8,0.

В настоящее время определение рН питательной среды производится колориметрическим способом с помощью стандартной шкалы Михаэлиса и компаратора Вальполя. Схему расположения пробирок для колориметрического определения в компараторе — см. «Моча» (стр. 308).

В качестве индикатора применяется 0,3% водный раствор метанитрофенола, который позволяет определять реакции в пределах между  $\text{pH} = 6,8 - 8,4$ .

Производство определения сводится к следующему: сначала ориентировочно определяется реакция среды бумажкой, пропитанной раствором одного из индикаторов, меняющих свой цвет в пределах указанного рН. Очень удобен индикатор крезолрот<sup>1</sup>. Цвет крезолротовой бумажки желтый. В кислой среде бумажка светлеет и принимает лимонный оттенок. При слабо щелочной реакции ( $\text{pH} = 7,2 - 7,3$ ) бумажка розовеет. По мере увеличения щелочности среды (начиная с  $\text{pH} = 7,6$ ), индикаторная бумажка приобретает характерный фиолетовый оттенок. По степени интенсивности этого оттенка можно судить о степени щелочности среды.

К питательной среде прибавляется небольшими порциями щелочь до тех пор, пока бумажка не покажет слабо щелочной реакции (розовый оттенок). Когда грубо установлена слабо щелочная реакция среды по бумажке, можно приступить к точному определению рН по компаратору.

После каждого прибавления щелочи среду тщательно перемешивают и по 2 см<sup>3</sup> среды наливают в первую и вторую пробирки из компаратора. Предварительно в те же пробирки наливают дистиллированную воду из расчета 5 см<sup>3</sup> в первую и 4 см<sup>3</sup> во вторую пробирку. Во вторую пробирку добавляют, кроме того, 1 см<sup>3</sup> индикатора метанитрофенола. В третье гнездо компаратора ставят пробирку с индикатором из набора Михаэлиса с той концентрацией рН, какую необходимо получить в питательной среде. В четвертое гнездо ставят пробирку с дистиллированной водой. Все пробирки в компараторе по диаметру и цвету стекла не должны отличаться от стандартных пробирок с растворами метанитрофенола.

При определении реакции в агаре или желатине температура этих сред должна быть не ниже 45—50°, равно как и температура воды, прибавляемой в пробирки. В противном случае агар или желатина очень быстро становятся плотными, что затрудняет определение. Если при

<sup>1</sup> Крезолротовая бумага готовится следующим образом: 0,1 г крезолрота растворяют в 100 см<sup>3</sup> 50% спирта при температуре 37°. Несколько раз взбалтывают раствор. После растворения смачивают этой жидкостью полоски фильтровальной бумаги, высушивают как можно быстрее и мелко нарезают. Хранят в темном месте. Необходимо исключить влияние кислот и щелочей.



указанной расстановке пробирок в компараторе цвет жидкостей во второй и четвертой пробирках соответствует цвету первой и третьей пробирок (смотреть против света), то рН среды соответствует той величине, которая указана на стандартной пробирке в третьем гнезде.

Если цвет жидкостей во второй и четвертой пробирках светлее, чем в первой и третьей, рН испытуемой жидкости ниже, чем в стандартном растворе, и среда нуждается еще в добавлении щелочи; если же цвет жидкостей в первой группе пробирок темнее, чем во второй, рН испытуемой жидкости выше стандартной, и к среде следует добавить кислоту.

Рекомендуется прибавление щелочи производить осторожно, чтобы не перещелочить и избежать необходимого в таком случае прибавления кислоты, что очень часто влечет за собой последующее помутнение среды как после стерилизации, так и в процессе хранения.

Для подщелачивания среды пользуются 20% раствором едкого натра; можно подщелачивать также насыщенным раствором углекислого натрия. Подкисление производится 20% раствором соляной кислоты. После установления нужной реакции среду обязательно следует прокипятить.

Среды после стерилизации становятся более кислыми, если они недостаточно буферные. Поэтому в мясо-пептонных средах следует до стерилизации установить реакцию несколько выше той, которая необходима в готовой питательной среде. Например, если нужно среду приготовить с  $\text{pH} = 7,4 - 7,6$ , следует до стерилизации установить  $\text{pH} = 7,8$ . Среды же из трипсиновых переваров, особенно из казеина, обладают достаточной буферностью и реакцию после стерилизации не меняют. Само собой разумеется, что необходима проверка окончательной реакции после стерилизации.

Для успешного роста микробов недостаточно правильно установить первоначальную реакцию питательной среды. Микробы в процессе роста образуют ряд кислот, что делает реакцию среды кислой и является основной причиной прекращения роста. Во избежание этого необходимо создать условия, препятствующие резкому изменению реакции среды. Отчасти эту роль выполняют, как было указано выше, азотистые вещества, имеющиеся в среде. Чем больше аминокислот в субстрате, тем среда буфернее. В настоящее время к питательным средам прибавляют еще фосфатные буферные смеси.

б) Фильтрование сред. Жидкие питательные среды и расплавленная желатина фильтруются либо через складчатый фильтр из фильтровальной бумаги, предварительно смоченной водой, либо через фильтровальное полотно, которое накладывается на стеклянную воронку. Полотняные фильтры значительно практичнее бумажных, так как годны для употребления в течение длительного времени, в то время как бумажные фильтры употребляются лишь однократно. Рекомендуется только иметь отдельные полотняные фильтры для каждого вида среды.

Агаровые среды в расплавленном состоянии лучше всего фильтруются через ватно-марлевый фильтр, который делается следующим образом: стеклянную воронку покрывают марлевой салфеткой такой величины, чтобы концы салфетки были перекинuty через края воронки наружу; затем на марлю кладут слой гигроскопической ваты, фильтр смачивают горячей дистиллированной водой. Агар наливают на фильтр горячим.

в) Разливка сред. Разливка сред производится в посуду, предварительно тщательно вымытую, высушенную и закрытую ватными пробками. Посуда должна быть стерильной, если налитые в нее среды стерилизуются текучим паром или при давлении не более 0,5 атм. Если же последующая стерилизация сред в посуде проводится под давлением,



равным 1 атм (сверх воздушной), то предварительная стерилизация не-  
обязательна.

Для разливки питательных сред в пробирки пользуются воронкой или бюреткой, на нижний конец которой надета короткая резиновая трубка с маленьким стеклянным наконечником и зажимом Мора (рис. 342). При разливке во флаконы можно пользоваться мерительными цилиндрами или, лучше, мерительными стаканами. При разливании необходимо тщательно следить, чтобы края пробирки или флакона не были смочены питательной средой; в противном случае ватная пробка присохнет к стеклу и, смоченная бульоном, может прорасти микроорганизмами.

Для непосредственного использования среды разливают в пробирки по 5—10 см<sup>3</sup> и во флаконы по 50—100—200—400 см<sup>3</sup>.

После стерилизации питательный агар, разлитый в пробирки, оставляют застыть столбиком, если он приготовлен не для немедленного использования, или скашивают (косой агар) для непосредственного употребления.

Для скашивания пробирки с горячим агаром укладывают на покатой поверхности или под верхнюю часть пробирок подкладывают резиновую или стеклянную трубку и т. п.

Для разливки в чашки Петри пользуются агаром из флаконов или пробирок. Непосредственно перед разливкой следует агар растопить в водяной бане или текуче-паровом аппарате, а затем остудить до 50—55° (рис. 343).

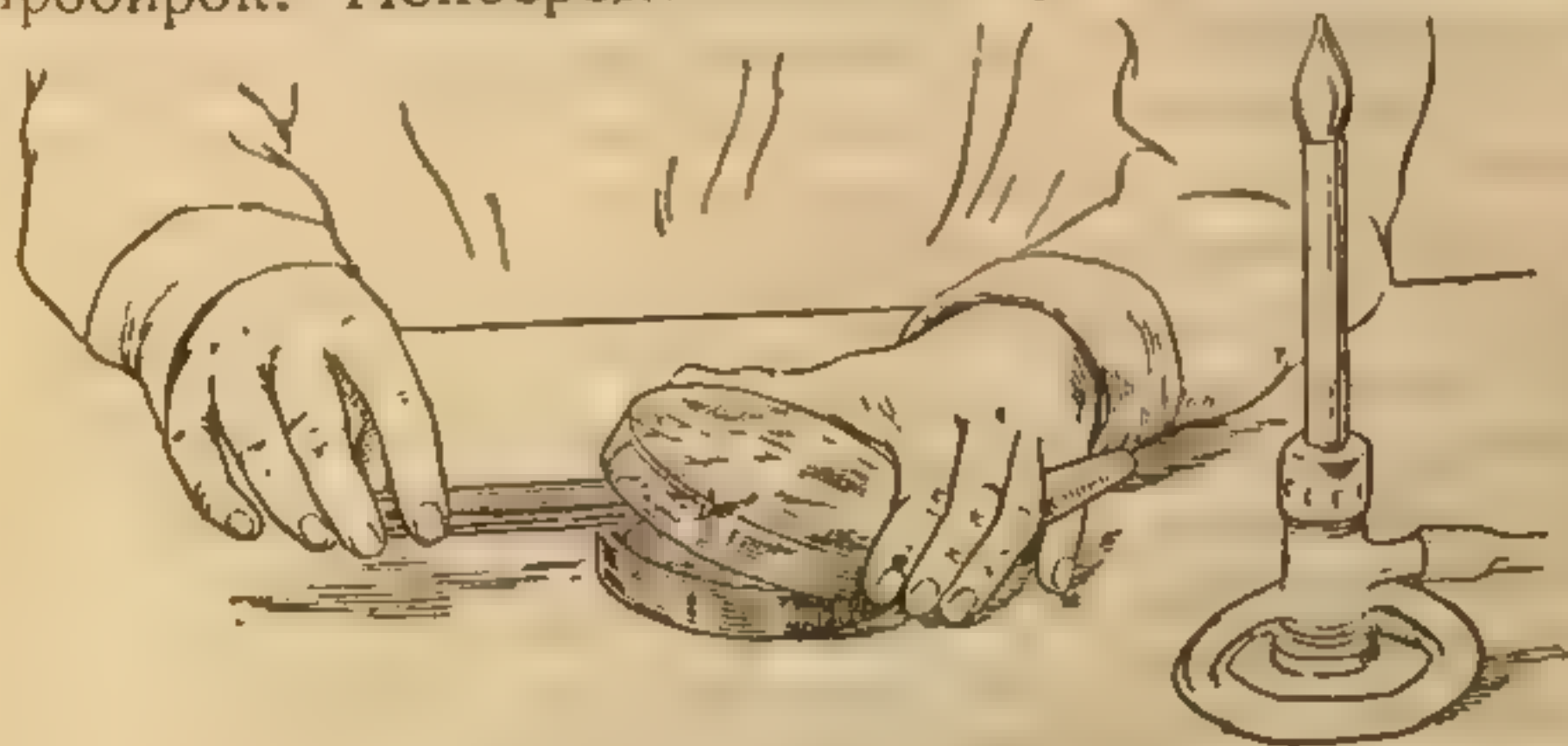


Рис. 343. Разливка агара в чашки.

Чашки Петри должны быть стерильны. Срок годности чашек со средой не превышает 24—48 часов. Хранение обязательно на холоду.

2) Рецепты и технология приготовления питательных сред.

а) Полуфабрикаты и основные питательные среды из них.

Мясная вода. Мясо, очищенное от жира и сухожилий, пропускают через мясорубку и заливают двойным количеством холодной водопроводной воды, т. е. на 1 кг мяса берут 2 л воды. В случае, если пользуются мясом низкого качества, рекомендуется на 1 кг мяса брать только 1 л воды. Затем мясную воду вместе с мясом ставят на огонь и кипятят 30—60 минут. Накипь снимают шумовкой до начала кипения. Настаивание мясной воды с мясом продолжительное время до кипячения



не рекомендуется во избежание размножения бактерий. По окончании кипячения надо дать среде немного отстояться, пропустить через полотно или фильтровальную бумагу, долить водопроводной водой до первоначального объема, разлить по бутылкам и стерилизовать при давлении в 1 атм (120°).

**Мясо-пептонный бульон.** К мясной воде прибавляют 1% пептона и 0,5% поваренной соли и ставят на огонь. После полного растворения пептона устанавливают 20% раствором едкого натра  $pH=8,0$  с расчетом, чтобы после кипячения и стерилизации  $pH$  бульона был 7,5—7,6. Если бульон предназначен для приготовления из него сахарного бульона или плотной среды (агара), следует устанавливать первоначальный  $pH$  не ниже 8,2—8,4. Кипятят бульон на огне 30—40 минут. Кипячение следует производить в сосуде, закрытом крышкой. Отмечают уровень бульона в сосуде и при выкипании приливают дистиллированную воду до отстаивания. Можно также прилить дистиллированную воду на выкипание сверх уровня бульона перед началом кипения.

После установления реакции и пятиминутного кипячения лучше заменить дальнейшее кипячение на огне автоклавированием при давлении 1 атм в течение 30 минут, для чего разлить бульон по бутылкам. При последнем способе очень хорошо осаждаются белки, что обеспечивает прозрачность бульона при последующей стерилизации.

После кипячения или автоклавирования оставляют среду для отстаивания до просветления жидкости, после чего осторожно сливают с осадка и фильтруют либо через полотняный фильтр, либо через 3—4 слоя фильтровальной бумаги. Осадок на фильтр не выливают. Если бульон готовится впрок, можно после автоклавирования оставить его в бутылках. За время хранения он очень хорошо отстаивается в бутылках. Фильтровать его можно по мере надобности и после фильтрации разлить по пробиркам или флаконам и стерилизовать при давлении 1 атм 30 минут.

**Мясо-пептонный агар.** К мясо-пептонному бульону<sup>1</sup> добавляют 2—2,5% дальневосточного или 2% импортного мелко нарезанного агара. Предварительно в бульоне устанавливают  $pH=8,2—8,4$ . Кастрюлю с бульоном и агаром ставят на огонь и кипятят до полного растворения агара. Во время кипячения необходимо все время помешивать во избежание пригорания. По окончании кипячения следует восстановить объем среды добавлением горячей дистиллированной воды, так как обычно испаряется значительное количество воды. Проверяют и, если нужно, исправляют реакцию, после чего кипятят агар. Следует дать агару отстояться в теплом месте, после чего фильтровать в горячем состоянии через ватно-марлевый фильтр. Осадок на фильтр не выливать. Разливают в посуду, стерилизуют под давлением в 1 атм в течение 30 минут.

Описанный способ приготовления агара наиболее простой и удобный. Однако он не пригоден для приготовления больших количеств агара (10 л и больше). При этом очень часто не удается избежать пригорания агара и испаряется очень много воды, кроме того, требуется длительное внимание персонала.

Поэтому при приготовлении значительных количеств агара можно пользоваться другим способом варки его, который состоит в следующем. Кастрюлю с бульоном и агаром помещают в автоклав либо под давлением в 0,5 атм на 30 минут, либо под текущий пар (100°) на 1—1½

<sup>1</sup> Вместо готового мясо-пептонного бульона можно взять мясную воду, добавить 1% пептона, 0,5% соли, установить реакцию и опустить туда агар в нужной пропорции.



часа. Текучим паром можно варить агар также в текучепаровом аппарате. Затем оставляют для медленного и равномерного отстаивания в теплом месте (можно оставить в автоклаве с потушенной горелкой) на несколько часов, после чего проверяют и, если нужно, исправляют реакцию и фильтруют. Можно после отстаивания дать агару застыть и на другой день срезать и удалить нижнюю часть агара с осадком. Прозрачный слой измельчают ножом и расплавляют текучим паром при  $100^{\circ}$  ( $1-1\frac{1}{2}$  часа), после чего устанавливают реакцию и фильтруют. Если после расплавления срезанного агара в нем будет заметна муть, дают агару вновь отстояться в теплом месте, после чего осторожно сливают с осадка. Следует учесть, что подщелачивания готового агара надо избегать, так как не исключена возможность выпадения осадка после подщелачивания при последующей стерилизации.

В настоящее время более широко применяются трипсиновые перевары. В мясной воде остаются не полностью использованными питательные вещества, так как при кипячении свернувшиеся белки адсорбируют большую часть экстрактивных веществ. В переварах же, благодаря ферментативным процессам, происходит более тонкое дробление белков, что позволяет до конца использовать питательные вещества исходного продукта и освобождает от употребления дорого стоящего готового пептона при приготовлении бульона.

Основной мясной перевар по Хоттингеру. 1 кг мяса, очищенного от жира и сухожилий, нарезают кусками примерно в 1 см<sup>3</sup>. Мясо опускают небольшими порциями в кастрюлю с двойным количеством (по отношению к мясу) кипящей водопроводной воды. Кипятят 15—20 минут, пока мясо не станет серым, что указывает на то, что белки свернулись. Вынимают мясо шумовкой и пропускают его через мясорубку. Устанавливают в жидкости  $pH=8,0$ . Опускают фарш в жидкость и охлаждают до  $40^{\circ}$  в открытой кастрюле.

Добавляют поджелудочную железу, очищенную от жира и дважды пропущенную через мясорубку<sup>1</sup>, в количестве 10% к взятой жидкости (на 1 л жидкости 100 г железы) или сухой панкреатин в количестве 0,5% и выше, в зависимости от его активности. Хорошо размешивают, после чего снова подщелачивают смесь до  $pH=7,8-8,0$  и повторяют такое подщелачивание через 30 минут. Отсутствие сдвига реакции смеси в сторону закисления после добавления фермента указывает на недоброкачественность последнего. Переливают перевар в бутыл с хорошо подобранной резиновой пробкой с таким расчетом, чтобы около  $\frac{1}{3}$  бутылки оставалось свободной. Добавляют 2—3% хлороформа (20—30 см<sup>3</sup> на 1 л жидкости), закрывают бутылку пробкой и несколько раз встряхивают так, чтобы хлороформ в переваре перемещался от дна бутылки к пробке и чтобы хлороформ в переваре освобождался от избытка. После чего вынимают пробку для освобождения от избытка. Через 1—2 часа после добавления фермента опять проверяют реакцию перевара и устанавливают в нем  $pH=7,4-7,6$ . Оставляют для дальнейшего переваривания при этой реакции на 7—10—14 дней при комнатной температуре. Первые 3—4 дня переваривания ежедневно проверяют и исправляют реакцию. В эти дни также производят встряхивание перевара не менее 3 раз в сутки тем же способом, как указано выше. В дальнейшем проверку

<sup>1</sup> Поджелудочную железу можно консервировать впрок. Для этого ее очищают от жира, пропускают через мясорубку и закладывают в стерильную банку, куда добавляют столько глицерина, чтобы он покрыл поверхность. В таком виде ее можно хранить на холоду 2—3 месяца. Если железа не свежая, а соленая, она хранится удовлетворительно и без глицерина.



реакции и встряхивание можно производить реже, а за 1—2 дня до окончания переваривания совсем прекратить, чтобы перевар отстоялся.

Конец переваривания характеризуется следующими признаками: 1) на дне бутылки собирается пылевидный осадок; 2) жидкость над осадком просветляется и принимает соломенножелтый цвет; 3) перевар легко фильтруется; 4) реакция на триптофан с бромной водой должна быть положительной (в пробирку налить 3—4 см<sup>3</sup> фильтрованного перевара, добавить 3—4 капли бромной воды)<sup>1</sup>; при наличии триптофана жидкость принимает розово-фиолетовый цвет; сравнить с контрольной пробиркой, где к перевару не прибавлена бромная вода; 5) гидролиз перевара доведен до содержания в нем 1 000—1 200 мг% общего азота.

По окончании переваривания нужно профильтровать перевар через полотняный или бумажный фильтр, разлить в бутылки и стерилизовать 30 минут при давлении в 1 атм (120°). Хранить впрок. Перед употреблением фильтровать.

**Бульон из перевара.** Для приготовления бульона следует развести фильтрованный трипсиновый перевар в 4—9 раз (в зависимости от цели) дистиллированной водой и добавить к смеси 0,5% хлористого натрия. Реакцию устанавливают такую, какая необходима в готовом бульоне. В остальном поступают, как указано для мясо-пептонного бульона, за исключением того, что кипячение на голом огне не следует заменять автоклавированием, как при приготовлении мясо-пептонного бульона.

**Агар на бульоне из перевара.** Агар в нужном проценте добавляют к бульону Хоттингера. В случае отсутствия готового бульона можно добавить агар к смеси перевара с дистиллированной водой и солью. Предварительно устанавливают в жидкости правильную реакцию. Следует учесть, что бульон Хоттингера обладает большей буферностью, чем мясо-пептонный, а потому после стерилизации pH в нем почти не меняется. Дальше поступают, как при приготовлении мясо-пептонного агара.

Перевары из говяжьего мяса с качественной стороны не имеют преимуществ над переварами из плаценты, кровяных сгустков, казеина, дрожжей, а с экономической и хозяйственной стороны последние заслуживают большого внимания.

**Перевар из плаценты.** Плаценту очищают от оболочек, хорошо промывают водопроводной водой от крови, нарезают кусочками и заливают полуторным количеством водопроводной воды. Дальше поступают, как при приготовлении перевара из мяса. Технология изготовления бульона и агара такая же, как из мясного перевара.

**Перевар из кровяных сгустков.** Крупные бактериологические лаборатории имеют в своем распоряжении большие отходы крови в виде кровяных сгустков после производства противокоревой сыворотки, приготовления свернутой сыворотки или серологических исследований. Среда из кровяных сгустков характеризуется высокими питательными свойствами и значительной буферностью.

Способ приготовления следующий. Кровяные сгустки промывают на решете водой и дают воде стечь. Сгустки взвешивают. Наливают в кастрюлю тройное по весу сгустков количество водопроводной воды и доводят ее до кипения. В кипящую воду постепенно опускают сгустки и кипятят 20—30 минут до просветления жидкости; образующую пену

<sup>1</sup> Приготовление бромной воды: на 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды берут 3—3,5 см<sup>3</sup> чистого брома для получения насыщенного раствора. Приготавливают бромную воду в вытяжном шкафу. Хранят в темной склянке не на свету.



снимают шумовкой. После кипячения сгустки вынимают из жидкости и пропускают через мясорубку. Полученный фарш заливают в открытом сосуде отваром из того же расчета, т. е. на 1 кг фарша 3 л отвара, подщелоченного до  $\text{pH} = 8,0 - 8,2$ . Выкипевшее количество жидкости доливают водой. Смесь охлаждают до  $37 - 40^\circ$ . В дальнейшем поступают, как указано для мясного перевара.

Казеиновый перевар. Казеин — сухой желтоватый порошок — является отходом молочной промышленности.

Для изготовления бульона и агара перевар разводят дистиллированной водой в такой же степени, как и кровяной перевар. В остальном изготовление питательного бульона и агара не отличается от приготовления из описанных выше субстратов.

Смесь оставляют в стеклянных бутылках для переваривания в термостате при 45—50° до тех пор, пока фарш не превратится в порошоквидную массу и смесь не даст положительной реакции на триптофан. В среднем переваривание продолжается 48 часов. Полученный мартеновский пептон в тех же бутылках стерилизуют при давлении в 1 атм и оставляют впрок. Для приготовления бульона Мартена жидкость отсасывают из бутыли сифоном или пипеткой Мора большой емкости, фильтруют через вату и соединяют в равных частях с мясной водой. Затем устанавливают необходимую реакцию, бульон кипятят 30 минут, отстаивают, после чего профильтровывают через полотно или фильтровальную бумагу и разливают в пробирки, колбы или бутылки. Бульон окончательно стерилизуют при давлении в 0,5 атм 30—40 минут.

Прессованные пекарские дрожжи нарезают небольшими кусками и закладывают в бутылки с таким расчетом, чтобы аутолизат занимал



около  $\frac{1}{5}$  емкости бутылки (4 кг дрожжей в 20-литровую бутылку). Бутылку с дрожжами ставят на 2 суток в термостат при температуре  $56-58^{\circ}$ . По мере разжижения дрожжей нужно встряхивать бутылку для равномерного прогревания содержимого. Конец аутолиза характеризуется полным разжижением дрожжей. Аутолизат должен иметь коричневатый оттенок и приятный запах. Качество аутолизата ухудшается, если температура в термостате будет ниже  $56^{\circ}$ . По окончании аутолиза добавляют в бутылку тройное по весу исходных дрожжей количество теплой водопроводной воды (на 4 кг дрожжей 12 л воды). Разведенный аутолизат помещают в автоклав для стерилизации при давлении в 1 атм ( $120^{\circ}$ ) на 30 минут. Оставляют на несколько дней для отстаивания.

Для приготовления агара сливают сифоном или пипеткой Мора отстой над осадком, добавляют к нему  $0,25-0,5\%$  поваренной соли и  $2-2,5\%$  агара, предварительно установив требуемую реакцию. Дальше поступают, как при приготовлении мясо-пептонного агара.

Дрожжевой агар наиболее употребителен для получения массивного выхода микробов в матрацах. Рекомендуется также для дифференциальных сред при исследованиях на кишечную группу бактерий.

б) Индикаторы. В специальные среды, служащие для выявления биохимических свойств микробов (цветные углеводные среды), прибавляют индикаторы, которые указывают на выделение кислоты при разложении тех или других углеводов.

Наиболее широко распространенными индикаторами для этой цели являются следующие.

1. Индикатор Андреда. Состав индикатора следующий: кислого фуксина — 1 г, дистиллированной воды —  $400\text{ см}^3$ , нормального раствора едкого натра —  $64\text{ см}^3$ . После приготовления индикатор держат сутки в термостате, а потом 2 суток на свету. Сохраняют в темной бутылке. При прибавлении к среде индикатор должен быть бесцветным. В кислой среде он дает покраснение.

2. Настойка лакмуса. Продажный лакмус растирают в порошок и экстрагируют 3 суток при  $37^{\circ}$  десятикратным количеством чистого спирта ( $96^{\circ}$ ), ежедневно меняя последний. Затем спирт сливают и осадок высушивают в термостате. Сухой осадок заливают десятикратным количеством дистиллированной воды и после трехдневного настаивания при комнатной температуре фильтруют. В кислой среде лакмусовая настойка показывает покраснение, в щелочной — посинение.

3. Индикаторы Кларка. Бромкрезолпурпур, фенолрот и бромтимолблау употребляются в  $1,6\%$  спиртовом растворе. В кислой среде все три индикатора дают желтое окрашивание; в щелочной среде фенолрот дает покраснение, бромтимолблау — посинение среды, а бромкрезолпурпур — сине-фиолетовое окрашивание.

Индикаторы Кларка используются не только при приготовлении питательных сред, но и для определения реакции в различных субстратах, например, при приготовлении антигена для реакции с гаптеном (стр. 703) или экстракта из стрептококка (стр. 676). Но для этой цели применяют водные растворы индикаторов, так как они считаются более чувствительными, чем алкогольные.

Способ приготовления водных растворов следующий: 0,1 г индикатора в порошке перетирают в агатовой ступке с  $\frac{1}{20}$  раствором едкого натра: для бромтимолблау требуется  $3,2\text{ см}^3$  едкого натра, для фенолрота —  $5,7\text{ см}^3$  едкого натра, для бромкрезолпурпура —  $3,7\text{ см}^3$ .

После растворения добавляют воду до  $25\text{ см}^3$  и получают  $0,4\%$  основные растворы, которые сохраняются про запас. Для определения



реакции основные растворы бромтимолблау и бромкрезолпурпура разводят дистиллированной водой в 10 раз, а фенолрот — в 20 раз.

Для определения реакции в субстратах употребляют также раствор розоловой кислоты: 0,1 г растворяют в 100 см<sup>3</sup> чистого спирта и прибавляют 150 см<sup>3</sup> воды. Получается рабочий раствор — 0,04%. В кислой среде этот индикатор дает желтое окрашивание, в щелочной — красное.

в) Среды для бактерий кишечной группы. Для кишечной группы бактерий пользуются обычно средами, которые позволяют дифференцировать микробов, не разлагающих лактозу, от кишечной палочки — постоянной обитательницы кишечника, разлагающей лактозу. Это так называемые дифференциальные среды.

Имеется несколько групп дифференциальных сред.

Первая группа содержит лишь лактозу и индикатор (среды с конгоротом, бромкрезолпурпуром и др.). Среды этой группы не обладают селективными свойствами для микробов кишечной группы. На них растут грамположительные микробы и вульгарный протей.

Вторая группа содержит дополнительные вещества (малахитгрюн, бриллиантгрюн, желчь, метиленовая синька), которые задерживают рост грамположительных микробов. Это так называемые селективные среды.

Третья группа сред, которая заслуживает особого внимания, содержит химические вещества, подавляющие рост кишечной палочки и других сопутствующих грамотрицательных бактерий, но допускает пышный рост тифозных или дизентерийных микробов. Такие среды называются селективными. По этому принципу составлена висмут-сульфитная среда для тифо-паратифозных микробов и среда Лифзона с солями желчных кислот для дизентерии. Способ приготовления названных селективных сред довольно громоздкий. Качество среды находится в большой зависимости от стандартности всех ингредиентов, входящих в сложную рецептуру этих сред. Поэтому рекомендуется пользоваться сухой висмут-сульфитной средой, которую выпускает Центральный институт эпидемиологии и микробиологии в Москве. Среду же Лифзона с большим успехом заменяет среда Зейферта в модификации Чистовича и особенно сухой бакто-агар Ж. Последний изготавливается также Центральным институтом эпидемиологии и микробиологии.

Ниже приводятся прописи наиболее доступных и распространенных питательных сред из названных трех групп.

Первая группа. Среда с конгоротом. К 100 см<sup>3</sup> расплавленного слабо щелочного агара прибавляют 1 г лактозы и 2 см<sup>3</sup> стерильного 10% водного раствора конгорота. Яркокрасную среду разливают в чашки. По рецепту лаборатории больницы им. Боткина (Москва) на 100 см<sup>3</sup> агара добавляют 10 см<sup>3</sup> 10% раствора лактозы и 5 см<sup>3</sup> 1,2% водного раствора краски конгорот, т. е. среда содержит 1% лактозы и 0,6% конгорота.

Бромкрезоловая среда. Готовят 1,2% спиртовой раствор бромкрезолпурпура, отдельно готовят 2,6% спиртово-водный раствор (в равных частях) метиленовой синьки; после приготовления фильтруют отдельно каждый раствор. На 1000 см<sup>3</sup> обычно приготовленного и расплавленного питательного агара (pH=7,3—7,4) добавляют 7,5 см<sup>3</sup> 1,2% спиртового раствора бромкрезолпурпура, смешивают крутовыми движениями и приливают 2,3 см<sup>3</sup> приготовленного раствора метиленовой синьки, затем добавляют 10 г лактозы, предварительно растворенной в дистиллированной воде и прокипяченной. После этого среду стерилизуют дробно в аппарате Коха.



Среда сине-фиолетовая. Можно готовить среду без синьки. На этой среде колонии кишечной палочки имеют зеленый цвет (без синьки — желтый), а тифозные, паратифозные и дизентерийные — сине-голубой.

Вторая группа. Среда Эндо. 100 см<sup>3</sup> обычного агара (pH=7,4) растапливают на водяной бане или в текучепаровом аппарате, охлаждают до 70° и прибавляют 1 г химически чистой лактозы, предварительно растворенной в стерильной пробирке в небольшом количестве дистиллированной воды и прокипяченной (при употреблении неочищенного молочного сахара вместо лактозы нужно брать 1,5 г). В отдельных пробирках готовят: 1) 2—3 см<sup>3</sup> спиртового насыщенного раствора основного фуксина; 2) 10 см<sup>3</sup> 10% водного раствора сернистокислого натрия (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>)<sup>1</sup>. В стерильную пробирку отмеривают 1 см<sup>3</sup> раствора фуксина и прибавляют раствор сернистокислого натрия до обесцвечивания фуксина (бледнорозовый цвет). Приготовленную смесь вливают в растопленный агар, хорошо перемешивают (избегать образования пены) и разливают по чашкам. Горячий агар имеет бледнорозовый цвет, при застывании он становится бесцветным. Парафуксина<sup>2</sup> следует брать не 1 см<sup>3</sup> раствора, а 1,5 см<sup>3</sup> и доводить обесцвечивание до желтого цвета, если не получается розового.

Кишечная палочка при росте на этой среде дает красные колонии с металлическим блеском, а тифозные, паратифозные, дизентерийные — бесцветные.

Среда Левина. Обычный стерильный питательный агар с pH=7,2—7,4, разлитый по бутылкам по 100—200—400 см<sup>3</sup>.

К 100 см<sup>3</sup> готового и расплавленного агара добавляют: 1) 2 см<sup>3</sup> 0,5% водного раствора метиленовой синьки, предварительно подогретого на водяной бане; 2) 1,5 см<sup>3</sup> 2% водного раствора эозина; 3) 2 г лактозы; 4) 0,2 г двуосновного фосфорнокислого калия (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>).

Растворы красок готовят на дистиллированной воде, стерилизуют в текучепаровом аппарате и сохраняют впрок. Лактозу и двуосновной фосфорнокислый калий перед прибавлением к агару растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды и кипятят.

Раствор лактозы и фосфорнокислого калия можно приготовить вместе: к 50 г лактозы вместе с 5 г K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> прибавляют при подогревании дистиллированной воды до 100 см<sup>3</sup>. На каждые 100 см<sup>3</sup> агара добавляют 4 см<sup>3</sup> этого раствора.

После добавления всех ингредиентов тщательно перемешивают среду, разливают в чашки Петри, подсушивают. Среда имеет фиолетовый цвет. Колонии патогенных кишечных бактерий на этой среде прозрачны, бесцветны или имеют розоватый оттенок. Кишечная палочка образует синие или черные колонии. Протей растет изолированными оранжевыми колониями. Среда изменяет цвет только вокруг колонии протей; вокруг же остальных она сохраняет свой цвет.

Третья группа. Среда Зейферта в модификации Чистовича. К 1 л стерильного расплавленного агара добавляют: 1) 10 г лактозы; 2) 20 г лимоннокислого натрия; 3) 100 см<sup>3</sup> стерильной бычьей желчи.

Среду тщательно перемешивают и прогревают в текучепаровом аппарате 30 минут, после чего к ней прибавляют 2 г лимонноаммиачного же-

<sup>1</sup> Качество сульфита существенно влияет на среду Эндо: 1) сульфит должен быть безводным (сохранять в герметической упаковке); 2) если сульфит не кристаллический, его надо перекристаллизовать или прокалить в сушильном шкафу. В последнем случае сульфит в виде аморфного порошка хорошо сохраняется, но для приготовления среды его берут в 20% растворе.

<sup>2</sup> Один из препаратов фуксина.



леза и 1 см<sup>3</sup> 20% водного раствора нейтральрота с рН=7,4. Разливают в чашки Петри. Чашки хранят в темноте.

Среда особенно показана для дизентерийных микробов Гисс-Флекснера. Протей не растет. Колонии дизентерийных микробов бесцветные, прозрачные. Колонии кишечной палочки розовые, мутные. Из кокков растет только энтерококк.

Приготовление молочной сыворотки и агара на молочной сыворотке (взамен лактозы). Молоко отстаивают, отделяют от жира и нагревают до 80—90°. Прибавляют 10% раствор химически чистой соляной или уксусной кислоты до тех пор, пока не прекращается выпадение казеина. Жидкость фильтруют через вату и бумажный фильтр, а затем после установления рН=7,6 фильтруют снова.

Молочная сыворотка может быть использована для приготовления дифференциальных сред. Для этой цели готовят специальный агар по следующему способу: к 700 см<sup>3</sup> бульона (рН=7,6—7,8; концентрация пептона больше, чем в обычном бульоне; например, на 1 часть основного перевара Хоттингера берется 1 часть воды вместо двух) прибавляют 300 см<sup>3</sup> молочной сыворотки. На этой смеси готовят обычным способом питательный агар. В смеси снова проверяют реакцию. Стерилизуют дробно 3 дня подряд. Нельзя стерилизовать под давлением.

Желчный бульон. Свежую желчь нагревают текучим паром при 100° в течение 1 часа. Фильтруют через полотно или вату. Разливают, стерилизуют при давлении в 1 атм 30 минут. Для приготовления бульона берут 10—20% желчи и 80% обычного бульона (рН=7,4—7,6). Стерилизуют текучим паром 3 дня подряд или при давлении в 0,5 атм 30 минут.

Среда Рапорт. Желчь фильтруют и доливают обыкновенным бульоном с рН=7,2, чтобы получился 10% желчный бульон. Вновь фильтруют. Добавляют 2% глюкозы и индикатор, которым служит либо 1% индикатора Андред, либо, лучше, 0,1% бромкрезолпурпура (см. стр. 652). Разливают по 50 см<sup>3</sup> во флаконы, куда вкладывают поплавки для обнаружения газообразования<sup>1</sup>. Стерилизуют текучим паром.

Глицериновая смесь. Берут 2 л физиологического раствора, 1 л глицерина и 5% раствора Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> столько, чтобы довести рН смеси до 8,0. Стерилизуют текучим паром 3 дня подряд или при давлении 0,5 атм 15 минут. После стерилизации рН должен быть 7,6—7,8.

Фосфатная буферная смесь. На 1 л дистиллированной воды добавляют фосфорнокислого однозамещенного калия (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 0,45 г, 5,34 г фосфорнокислого двухзамещенного (выветренного) натрия (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>). Разливают, стерилизуют в автоклаве при давлении 1 атм 30 минут.

Среда Мюллера. В стерильные флаконы отвешивают по 4,5 г мела. Стерилизуют сухим жаром. Наливают в каждый флакон по 90 см<sup>3</sup> бульона. Стерилизуют при давлении 1—1,3 атм 30 минут. К каждому флакону стерильно добавляют 2 см<sup>3</sup> раствора Люголя и 10 см<sup>3</sup> раствора серноватистокислого натрия (гипосульфит).

Раствор Люголя: иодистый калий — 20 г, дистиллированная вода — 20 см<sup>3</sup>, иод — 25 г. После растворения долить дистиллированной воды до 100 см<sup>3</sup>.

Раствор серноватистокислого натрия: насыпают в измерительный цилиндр 50 г серноватистокислого натрия и добавляют дистиллированной воды до 100 см<sup>3</sup>; переливают в бутылку; стерилизуют текучим паром.

<sup>1</sup> Поплавками служат стеклянные трубочки длиной 60—70 мм и диаметром 8 мм, которые помещаются во флаконы открытым концом вниз; верхний конец трубочки запаян, в нем собирается образующийся газ.



**Среда Шустовой.** К 100 см<sup>3</sup> расплавленного и охлажденного до 50° 2% мясо-пептонного агара (рН=7,4) добавляют 10 см<sup>3</sup> раствора гипосульфита и 2 см<sup>3</sup> раствора Люголя. Перемешивают, разливают по чашкам Петри или в широкие пробирки скошенным слоем.

**Комбинированная среда Кауфмана.** К 500 см<sup>3</sup> среды Мюллера добавляют 25 см<sup>3</sup> стерильной желчи и 5 см<sup>3</sup> 0,1% водного раствора бриллиантовой зелени. Стерилизация текучим паром 1 раз в течение 15 минут. Разлить по пробиркам с соблюдением правил асептики.

**Среды Гисса.** Среды Гисса для практической диагностики микробов кишечной группы содержат следующие углеводы: глюкозу, мальтозу, сахарозу, лактозу и маннит. Методика приготовления: к дистиллированной воде прибавляют 1% пептона и 0,5% соли. Растворяют на огне, прибавляют 1% реактива Андреса или 0,1% бромкрезолпурпура, кипятят и устанавливают рН=7,2. Кипятят, фильтруют и доливают до первоначального объема дистиллированной водой. Прибавляют 0,5—1% одного из углеводов<sup>1</sup>, разливают по пробиркам с поплавками<sup>2</sup>. Разлитая среда может сразу не заполнить всего поплавка. Это достигается при последующем кипении во время стерилизации, если уровень среды в пробирке не ниже  $\frac{4}{5}$  высоты поплавка.

Стерилизуют 3 дня текучим паром по 30 минут или при давлении в 0,5 атм 15 минут. Среду Гисса можно готовить и без поплавков с прибавлением 0,5% агара. При наличии газа наблюдаются пузырьки или разрывы в толще агара. Набор пробирок со средами Гисса с различными углеводами называется пестрым рядом.

**Среда Ресселя.** К 1% агару (приготовленному на трипсиновом переваре, разведенном в 5—6 раз), растопленному, профильтрованному, охлажденному до 50—60°, прибавляют 4% индикатора Андреса или 0,1% бромкрезолпурпура; затем устанавливают реакцию рН=7,3—7,4. После этого добавляют 1% лактозы и 0,1% глюкозы и разливают по 10—15 см<sup>3</sup> в пробирки. Стерилизуют текучим паром 3 дня по 30 минут. Следует скосить агар так, чтобы нижняя половина оставалась столбиком, а верхняя — была в виде косога агара.

**Желатина.** В мясную воду прибавляют 1% пептона, 0,5% соли и 12% желатины, предварительно мелко раскрошенной. Мешать следует стеклянной палочкой, чтобы желатина по возможности растворилась. Ставят в кипящий автоклав на 10 минут, после чего устанавливают рН=7,5 и снова ставят в автоклав на 1 час для обработки текучим паром. Дают отстояться и фильтруют через полотно. Стерилизуют текучим паром 2 дня по 30 минут. После стерилизации каждый раз быстро охлаждают, для чего опускают в холодную воду или ставят на холод.

**Молоко.** Свежее молоко доводят на огне до кипения, оставляют в прохладном месте на сутки. Освобождают от верхнего жирного слоя.

Вторично кипятят, оставляют еще на сутки, опять снимают верхний слой. Разливают и стерилизуют текучим паром 2 дня по 30 минут.

**Молоко с лакмусом.** Перед стерилизацией прибавляют к молоку, приготовленному, как указано выше, 5—10% лакмусовой настойки и столько 10% раствора углекислой соды, чтобы пена молока приняла синевато-фиолетовый оттенок.

<sup>1</sup> Если углеводы не химически чистые, фильтровать среду после прибавления углеводов.

<sup>2</sup> Поплавками служат стеклянные трубочки (диаметром 3 мм, длиной 25 мм) с запаянным концом, которые вставляются в пробирки открытым концом вниз для обнаружения выделяющегося газа. (См. примечание, стр. 655.)



Синтетическая лакмусовая сыворотка. Берут 0,05 г пептона высшего качества, 5 г соли (NaCl), 2 г лимоннокислого натрия 1 г сернокислого аммония, 0,5 г фосфорнокислого натрия двузамещенного, 0,4 г глюкозы, 20 г химически чистой лактозы, 0,25 г азолитмина, 1000 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Стерилизуют текучим паром 1 раз в течение 15 минут.

Пептонная вода для холерного вибриона. Основной раствор. В 1 л дистиллированной воды растворяют при нагревании 100 г пептона, 50 г хлористого натрия, 1 г азотнокислого калия и 20 г углекислой соды. Раствор фильтруют через бумажный фильтр и стерилизуют при давлении 1 атм 30 минут. Для получения пептонной воды разводят основной раствор пептона дистиллированной водой в 10 раз. Стерилизуют при давлении 1 атм 30 минут.

Агар щелочной (для холерного вибриона). Обычный мясо-пептонный агар подщелачивают до  $pH=8,0-8,2$ , стерилизуют, разливают в чашки и подсушивают в термостате при 37°.

Среда Дьедонне. Дефибрированную бычью или баранью кровь смешивают с равным объемом нормального раствора едкого кали, стерилизуют в автоклаве в течение 20 минут при 120°. Полученная смесь, содержащая щелочной альбуминат, прекрасно сохраняется в бутылках с притертой пробкой на холоду. Перед употреблением 3 части смеси прибавляют к 7 частям нейтрального 3% мясо-пептонного агара и разливают в чашки Петри. Чашки со средой Дьедонне выдерживают до посева не менее суток в термостате при 37°. Если чашки со средой Дьедонне срочно нужны, их прогревают при 65° в течение 5 минут или щелочной альбуминат, смешанный с агаром, прогревают в колбе на водяной бане при 100° в течение 2 часов, а затем разливают среду на чашки и слегка подсушивают в термостате. Чем старше щелочной альбуминат, тем быстрее идет созревание среды; поэтому щелочной альбуминат заготавливают впрок и храняют на холоду.

г) Среды для микробов кокковой группы. Сахарный бульон. Берут 1 л мясного трипсинового перевара и 2 л мясной воды, прибавляют 0,5% соли, подогревают до 80—90°, устанавливают  $pH=8,0-8,2$ , после чего кипятят 30 минут. Дают бульону отстояться в теплом месте 2 часа, фильтруют, разливают. Стерилизуют при давлении 0,5 атм 30 минут.

Приготавливают впрок 40% стерильный раствор глюкозы и с соблюдением строжайших правил асептики прибавляют глюкозу к бульону с таким расчетом, чтобы содержание сахара в бульоне составляло 1—2%. Для проверки стерильности ставят в термостат при 37° на 24—48 часов.

Агар с кровью (кровяной агар). К расплавленному и охлажденному до 45° агару прибавляют 5% дефибрированной или цельной свежей жевятой крови. Тщательно перемешивают, избегая образования пены, и разливают по чашкам.

Желчно-кровяной агар Беленького и Поповой. 3% агар, приготовленный на любом бульоне, кроме дрожжевого, фильтруют. К 60% этого агара прибавляют 40% нативной профильтрованной желчи. Разливают по флаконам. Стерилизуют при давлении 1 атм 30 минут. Для приготовления агара с кровью к этому желчному агару добавляют 5% дефибрированной крови. В дальнейшем поступают, как указано для обыкновенного агара с кровью.

Среда Гисса для кокков. Среда Гисса для кокков содержит, кроме углеводов, указанных для кишечной группы бактерий, еще арабинозу, глицерин, сорбит, инулин и др. Способ приготовления не отличается



от описанного. Для менингококка, гонококка, пневмококка необходимо на 2—3 части готовой среды прибавить с соблюдением правил асептики 1 часть сыворотки или асцитической жидкости.

**Молоко с синькой.** К 100 см<sup>3</sup> молока, приготовленного обычным способом (как было указано в разделе сред для кишечной группы микробов), прибавляют 2 см<sup>3</sup> 1% водного раствора метиленовой синьки. Разливают по пробиркам. Проверяют стерильность в термостате в течение 24—48 часов.

**Асцитический бульон и агар.** Добытая асептическим путем асцитическая жидкость, налитая в стерильные пробирки или запаянная в ампулы, хорошо сохраняется на льду. Стерильность контролируется в термостате.

Асцитический бульон и агар представляют собой смесь бульона или агара с асцитической жидкостью. Смешение желательно производить непосредственно перед употреблением, соблюдая строгую асептику. Берут 1 часть асцитической жидкости на 2 или 3 части стерильного бульона или агара, расплавленного и охлажденного до 45—50°.

**Сывороточный агар.** К расплавленному и охлажденному до 45° агару прибавляют 10% стерильной сыворотки, тщательно перемешивают, избегая образования пены, разливают по чашкам Петри. Можно прибавлять к агару сыворотку, обработанную формалином следующим образом: к нормальной сыворотке прибавляют 0,2% формалина, смешивают; затем прибавляют 0,2% аммиака и опять смешивают, после чего сыворотку разводят 2 объемами дистиллированной воды, стерилизуют в текучепаровом аппарате и разливают по ампулам. На 3 части агара прибавляют 1 часть формолсыворотки (формолсывороточный агар).

**Агар Бейли.** В 2 л дистиллированной воды кладут 40—60 г агара (предварительно увлажненного) и расплавляют в автоклаве при давлении в 1 атм 30 минут. Охлаждают до 40—50° и кладут туда мясо и сердце по 0,5 кг, нарезанные мелкими кусочками и предварительно освобожденные от жира и сухожилий. Смесь нагревают 1 час при 68°; затем температуру следует повысить до 80° и при этой температуре держать 35—40 минут. Жидкость через марлю сливают с мяса и к ней прибавляют на взятую воду 1% пептона и 0,5% соли. Пептон и соль надо раньше растворить в дистиллированной воде. Устанавливают рН=7,4. Кипятят 15 минут и оставляют для отстаивания и застывания до следующего дня. Срезают прозрачную часть от осадка, расплавляют ее текучим паром в течение 1 часа. Дают немного отстояться и разливают. Фильтрацию не производят. Стерилизуют текучим паром 3 дня по 1 часу.

**Кровяной агар Левинтала.** К растопленному агару, приготовленному на мясном бульоне и охлажденному до 70°, добавляют 10% дефибрированной крови. Тщательно взбалтывают и ставят на огонь через асбестовую сетку, все время побалтывая. При образовании пены снимают агар с огня. Повторяют такое кипячение 3 раза. Дают немного отстояться для оседания сгустков. Стерильно разливают отдельно прозрачную часть во флаконы для чашек и нижнюю часть с осадком — в пробирки. Контроль стерильности производится в термостате при 37° 24—48 часов.

д) **Свернутая кровяная сыворотка для дифтерийных палочек.** Кровь добывают от крупных животных. Кровь лошадей берут из яремной вены в стерильные цилиндры, в которые предварительно налито по 20—30 см<sup>3</sup> физиологического раствора. Перед взятием крови смачивают стенки цилиндра находящимся там физиологическим раствором. Бычью кровь набирают в стерильные цилиндры на бойнях при убое скота.



После взятия кровь ставят на 30 минут в термостат для более быстрого свертывания, затем обводят стерильной стеклянной палочкой. Дают сыворотке отстояться в прохладном месте.

Можно также пользоваться человеческой сывороткой — отходами производства противокоревой сыворотки (физический брак, пророст<sup>1</sup> и т. д.).

Чистую сыворотку любого происхождения сливают через стерильные воронки в стерильные бутылки. Если стерильность сыворотки вызывает сомнение, в бутылку следует добавить, в зависимости от качества сыворотки, от 0,5 до 1% хлороформа. Сыворотку инактивируют 1 или 2 раза при 58° по 1 часу. В бутылку с сывороткой монтируют стерильный сифон. Разливка в пробирки должна происходить с соблюдением правил асептики. Свертывание сыворотки производят при наклонном положении пробирок в свертывателе Коха или сушильном шкафу в течение 1 часа при 85—90°. Контроль стерильности в термостате—24—48 часов.

**Сыворотка Леффлера.** Смешивают 1 часть сахарного слабо щелочного бульона с 3 частями кровяной сыворотки любого происхождения. Инактивацию, разливку, свертывание и контроль производят так же, как при приготовлении свернутой кровяной сыворотки. Леффлеровская сыворотка менее элективна для дифтерийных палочек, чем свернутая кровяная сыворотка, и на ней наблюдается обильный рост других микробов.

**е) Среды для анаэробов.** Среда Тароцци. Бычью печень или мясо нарезают мелкими кусочками и взвешивают. Заливают троескратным количеством питательного бульона и кипятят в течение 30 минут. Чтобы удалить образовавшийся осадок, бульон фильтруют, а печень или мясо промывают на сите водопроводной водой. Распределяют по пробиркам по 3—4 г печени или мяса и по 7—8 см<sup>3</sup> бульона. Стерилизуют при давлении 1 атм 30 минут.

**Среда Робинсон-Стовалл.** Молоко готовят, как описано выше (стр. 656). На 100 см<sup>3</sup> стерильного молока прибавляют 10 см<sup>3</sup> свежеприготовленного 20% раствора сернистокислого натрия (среднего) и 1 см<sup>3</sup> 8% раствора хлористого (или полутрахлористого) железа. Разливают в пробирки по 10 см<sup>3</sup>, стерилизуют текучим паром 1 раз 20 минут.

**ж) Среды для туберкулезных палочек.** Среда Петраняни. 150 см<sup>3</sup> коровьего молока, 6 г картофельной муки, 1 г пептона и одну картофелину средней величины, нарезанную на мелкие кусочки, помещают в колбу емкостью 1 л, в которой находятся стеклянные бусы. При постоянном размешивании колбу выдерживают 10 минут в кипящей воде (водяная баня), пока не образуется клейстер. Оставляют колбу в бане при 56° на 1 час. Прибавляют 4 цельных яйца и желток от пятого. Размешивают. Фильтруют через марлю. Приливают 12 см<sup>3</sup> глицерина и 10 см<sup>3</sup> 2% водного раствора малахитовой зелени. Разливают в стерильные пробирки. Свертывают в наклонном положении при 85° 2 1/2 часа.

**Глицериновый картофель.** Из тщательно вымытой щеткой и очищенного картофеля вырезают все глазки. Затем широким сверлом, предварительно обтерев его спиртом, вырезают цилиндрические куски, разрезают их по диагонали обожженным ножом, вымачивают двое суток в 5—6% глицериновой воде и кладут в широкие пробирки или пробирки с перетяжкой. Туда же наливают немного глицериновой воды и стерилизуют в автоклаве 20 минут при 120°.

**Яичная среда Любенау.** Берут самые свежие яйца, скорлупу тщательно обмывают с помощью щетки кипяченой водой, погружают на

<sup>1</sup> Используется сыворотка, забракованная из-за пророста кокками, которые в дальнейшем уничтожаются при прогревании.



10—15 минут в 5% раствор карболовой кислоты, вытирают стерильной марлей досуха, обтирают спиртом и кладут на стерильную бумагу. Затем берут яйцо за середину, слегка обжигая концы его, делают два отверстия прокаленным пинцетом в остром и тупом конце и, ударяя пинцетом по тупому концу, быстро выливают содержимое в заранее подготовленный и взвешенный стерильный сосуд со стеклянными бусами. После выливания яиц прибавляют  $\frac{1}{3}$  по весу 5% глицеринового мясо-пептонного бульона. Бульон следует брать натуральной кислотности (неподщелоченный). Обычно на 5 яиц приходится прибавлять 50—60 см<sup>3</sup> бульона. Смесь яиц и бульона хорошо взбалтывают (избегать образования пузырей), быстро фильтруют через марлю и разливают по пробиркам, для чего заранее заготавливают стерильную стеклянную воронку с резиновой трубкой, накопчиком и зажимом; на воронку натянут двойной слой марли. Воронку во время фильтрования необходимо прикрывать стерильным бумажным колпачком. Наполненные пробирки свертывают в наклонном положении, как сыворотку, нагревают 2—2½ часа при 85°. Среда должна иметь зеркальную гладкую поверхность. По Гону, остудив, в каждую пробирку стерильно приливают около 0,5 см<sup>3</sup> бульона натуральной кислотности (неподщелоченного). Ватные пробки заливают расплавленным парафином или воском. Готовую среду проверяют в термостате на стерильность в течение 48 часов и сохраняют на льду.

з) Сухие питательные среды. В настоящее время имеются у нас производственные лаборатории, которые с успехом вырабатывают сухие питательные среды, что должно внести значительную рационализацию в работу бактериологических лабораторий.

Трудно переоценить значение сухих сред: избавление от громоздкого процесса приготовления обычных сред, работа со стандартными средами, возможность сравнения методики работы отдельных лабораторий при пользовании одинаковыми питательными средами. Для работы в экспедиции и в полевых условиях значение сухих сред еще более возрастает.

Технология приготовления сред из сухих порошков проста и удобна: навеска, указанная на этикетке, высыпается в 100 см<sup>3</sup> холодной дистиллированной воды. Смесь следует хорошо разболтать до полного смачивания порошка водой. Затем нагревают смесь в водяной бане до кипения, не допуская пригорания, и кипятят до тех пор, пока среда окончательно не растворится. Охлаждают до 70°. Если среда жидкая (бульон, среда Гисса), ее разливают по пробиркам и флаконам. Если среда плотная, ее можно разливать, кроме того, в чашки Петри. Чашки Петри со средой следует хорошо подсушить. Чашки Петри с дифференциальной средой следует предохранять от действия света.

В настоящее время уже имеются отечественные сухие питательные бульоны и агары, среда Эндо, агар Левина, висмут-сульфитная среда для тифозных микробов, сухой бакто-агар Ж для дизентерийных палочек, среда Гисса с разными углеводами.

## ТЕХНИКА ПОСЕВА

Самым распространенным приемом бактериологической техники является посев и пересев на питательные среды. Для производства посевов необходимо иметь проволочную петлю, проволочную иглу и пастеровские пипетки. Петли и иглы до последнего времени изготовляли из платиновой проволоки. В настоящее время без ущерба для работы их изготовляют из значительно более дешевой проволоки нихром сечением 0,5 мм (рис. 344).

Рис. 344. Петли посева.

А — правильно сделанная петля; В — неправильно сделанная петля

Взвесь в физиологическом растворе NaCl (0,85%), если нужно, можно сделать более плотным, добавив стерильный пептон. Чашки Петри с дифференциальной средой следует предохранять от действия света. В настоящее время уже имеются отечественные сухие питательные бульоны и агары, среда Эндо, агар Левина, висмут-сульфитная среда для тифозных микробов, сухой бакто-агар Ж для дизентерийных палочек, среда Гисса с разными углеводами.



1) **Посев аэробов.** Посев чистых культур производится обычно либо на жидкие среды, либо на твердые питательные среды штрихом на поверхность застывшей среды или уколом вглубь ее. Кроме того, пользуются также пластинчатым способом на чашках Петри.

Жидкий материал наносят на плотную среду или вносят в жидкую среду петлей, а затем размазывают по поверхности или разбалтывают в жидкости. Из плотного материала, который можно эмульгировать, гото-

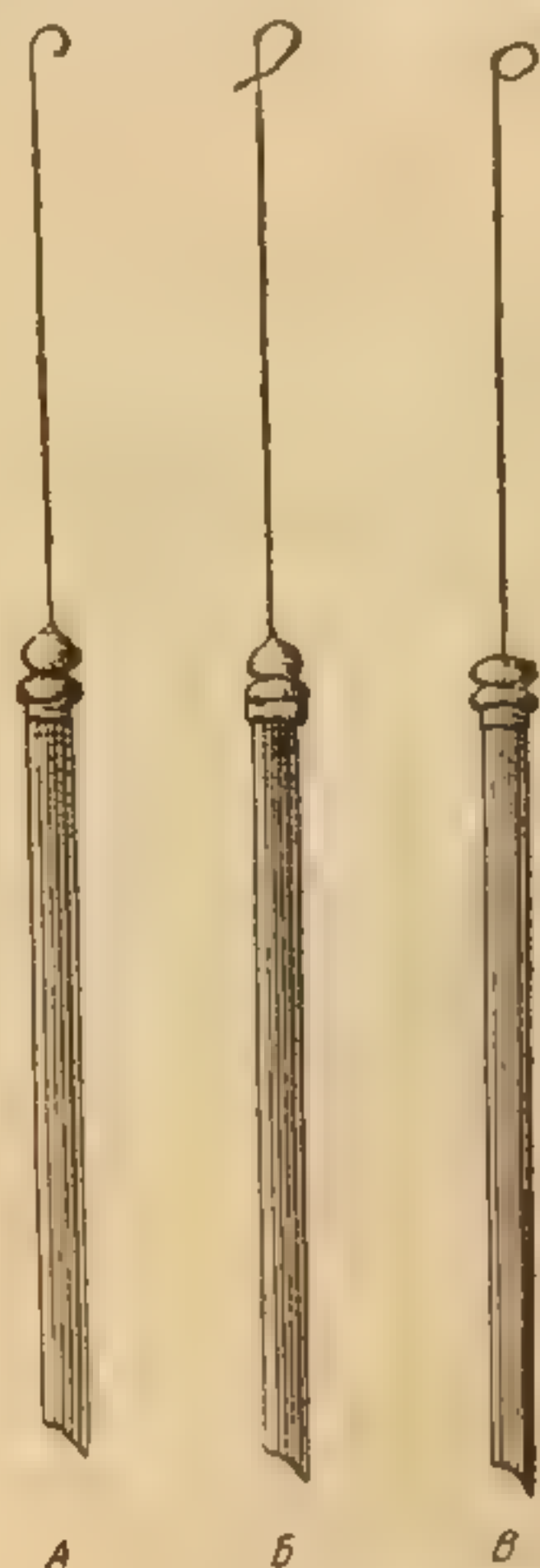


Рис. 344. Петли для посева.

А и Б — неправильно сделанные петли; В — правильно сделанная петля.

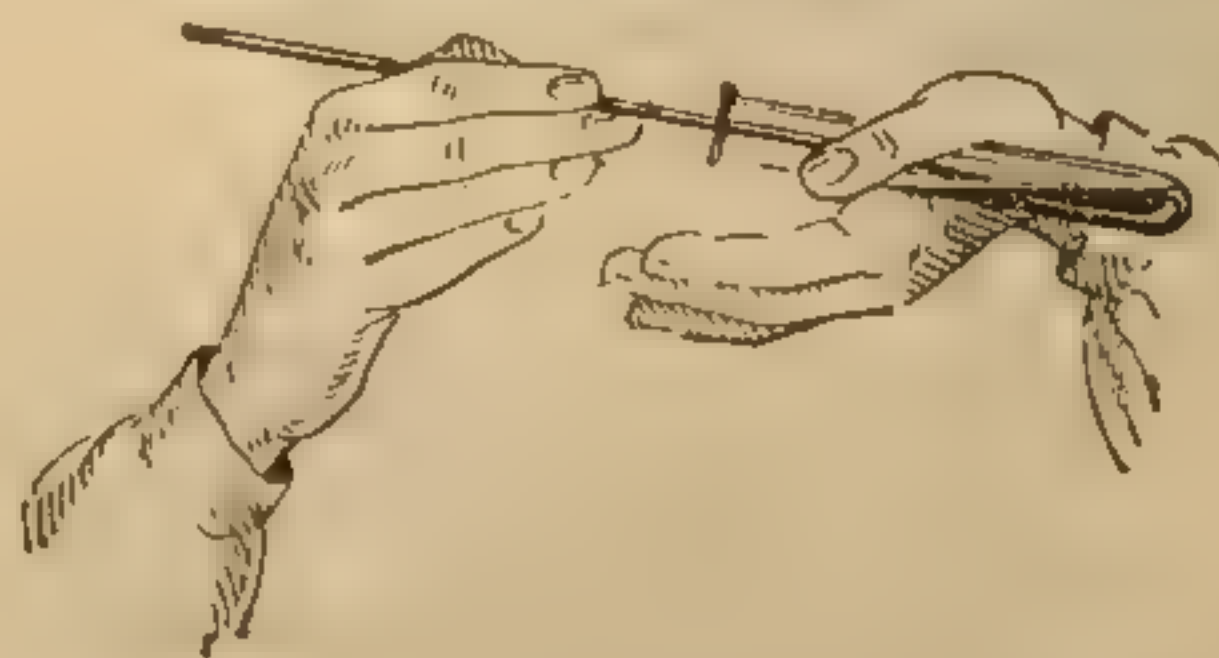


Рис. 345. Посев на скошенный агар.

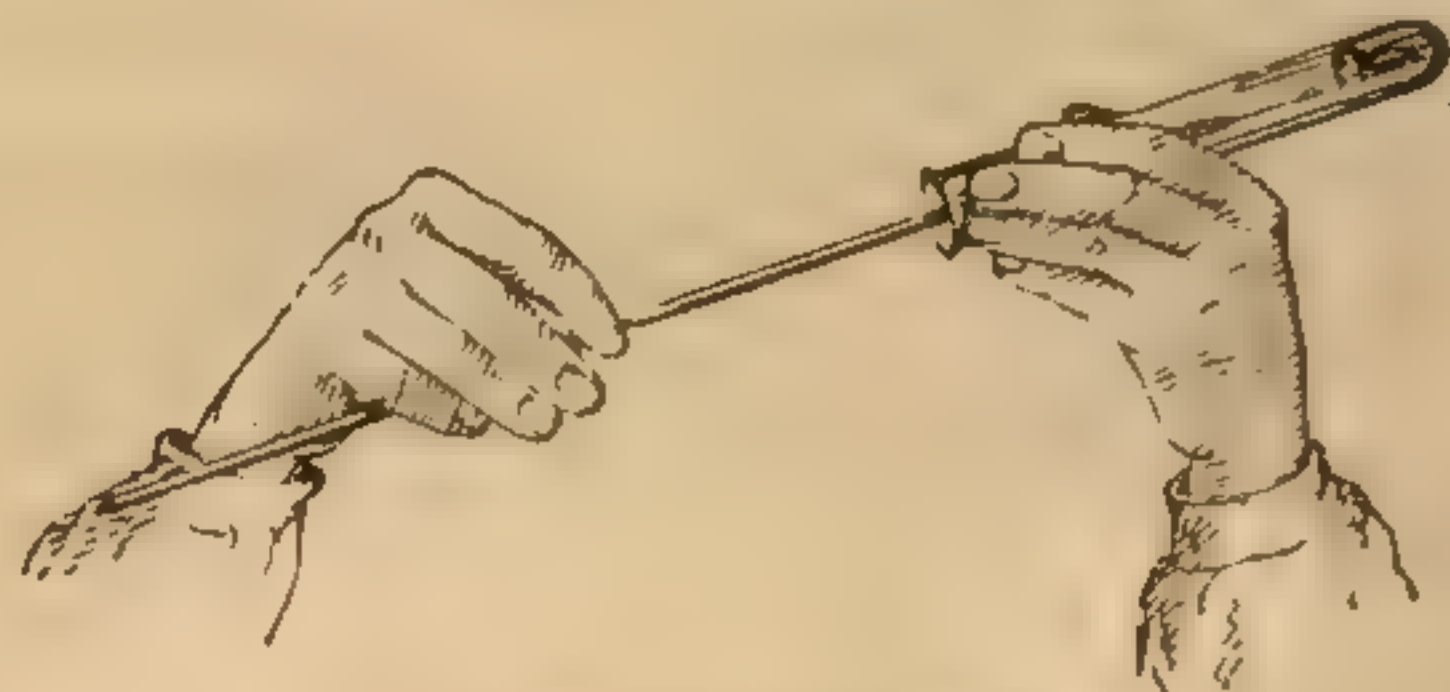


Рис. 346. Посев уколом



Рис. 347. Посев на чашке.

вят взвесь в физиологическом растворе NaCl (0,85%). В случае, если нужно посеять такой плотный материал, из которого нельзя приготовить взвесь, его растирают в ступке (можно со стерильным песком или раздробленным стеклом), прибавляют к полученной кашке физиологический раствор. Взвесь засевают пипеткой. Посуда (пробирки, пипетки, ступки) должна быть стерилизована сухим жаром; петлю прокалывают на пламени горелки.

Весь процесс посева должен производиться стерильно. Посуда (пробирки, пипетки, ступки) должна быть стерилизована сухим жаром; петлю прокалывают на пламени горелки.

При посеве в пробирку ее держат в наклонном положении в левой руке, между большим и указательным пальцем (рис. 345). Держа в правой руке петлю или пипетку, обжигают их на пламени, остужают и набирают материал; вынимают из пробирки пробку, зажимают ее между согнутым мизинцем и мякотью ладони правой руки, обжигают край пробирки и вносят в нее петлю или пипетку (посев уколом — рис. 346). Размазав или вылив материал для посева, снова обжигают край пробирки и закрывают ее пробкой. После этого обязательно прокалать петлю или опустить использованную пипетку в дезинфицирующий раствор, чтобы не инфицировать предметы в окружении.



При посеве на поверхность плотной среды в чашке Петри набирают материал петлей или в пипетку, как описано выше, приоткрывают крышку, наносят одну каплю на чашку и размазывают шпателем по всей поверхности агара (рис. 347). Если посевной материал содержит много бактерий (например, испражнения), то посев производят последовательно на 2—3 чашки; не обжигая, переносят шпатель после размазывания на первой чашке во вторую, со второй — на третью. Тогда на второй и третьей чашке вырастают изолированные колонии микробов (рис. 348). Можно

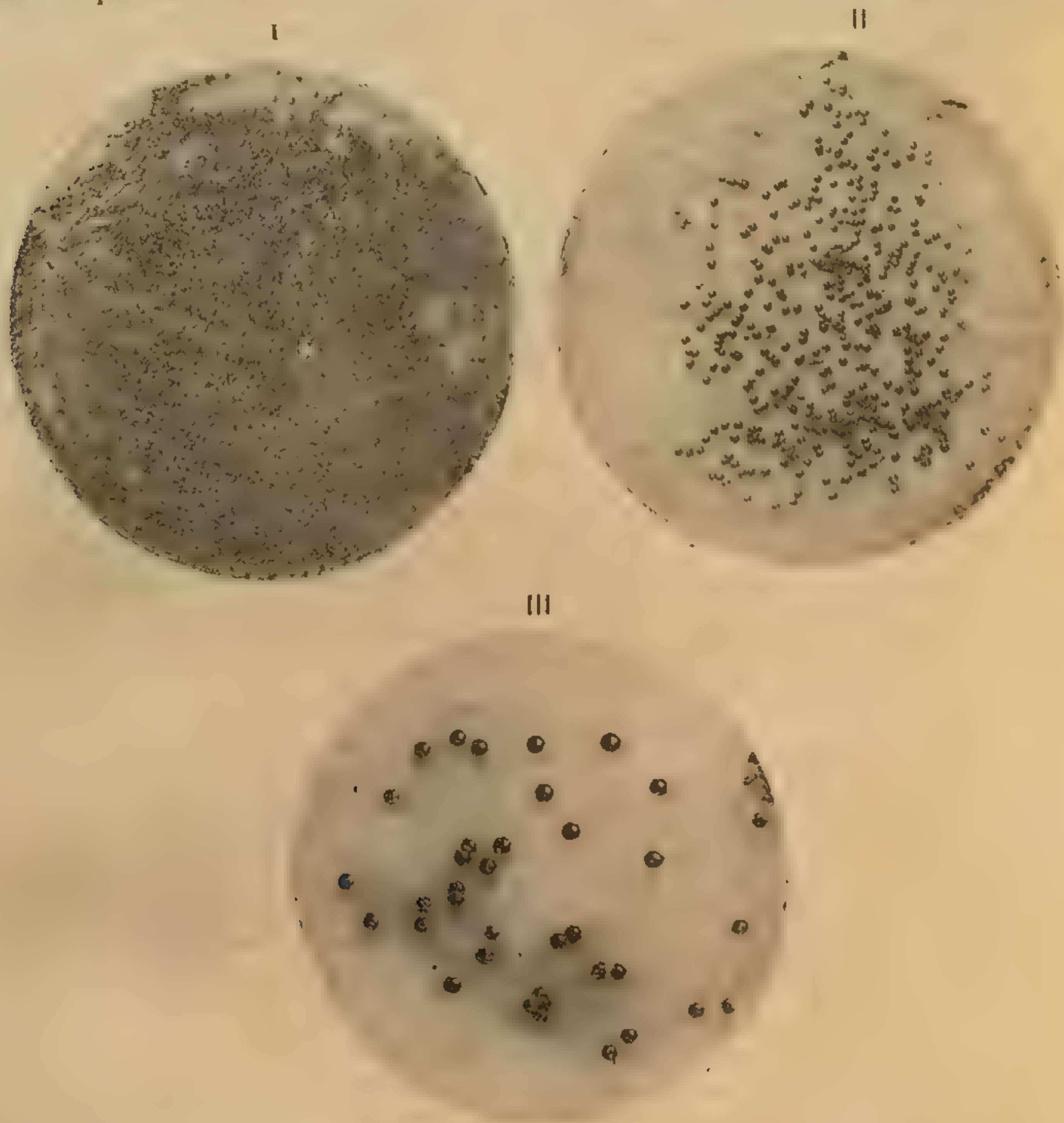


Рис. 348. Рост на чашках при последовательном посеве; слева направо: I, II и III — чашки.

получить рост отдельных колоний на одной чашке, если нанести каплю материала на край агаровой поверхности, размазать эту каплю шпателем на маленьком участке, а затем, оторвав шпатель, растереть остаток материала по остальной поверхности.

Для выделения чистой культуры необходимо получить на чашке Петри изолированные колонии. Одну колонию захватывают прокаленной и остуженной петлей и вносят в пробирку с жидкой или плотной средой. При пересеве из одной пробирки в другую обе пробирки держат левой рукой, как описано выше (рис. 349). При этом пробирку с культурой держат ближе к себе, а со свежей средой — дальше от себя.



Как описано, прокалывают петлю, пробки вынимают мизинцем и мякотью ладони правой руки, обе одновременно. Обжигают края пробирок, захватывают петлей небольшое количество культуры, переносят в пробирку со стерильной средой и размазывают по косой поверхности агара или делают укол в столбик его, или, наконец, растирают комочек культуры по стенке пробирки у края жидкой среды и смывают средой.

2) **Посевы в анаэробных условиях.** Для выделения анаэробных культур употребляют те же среды, что и для аэробных, но к ним при-

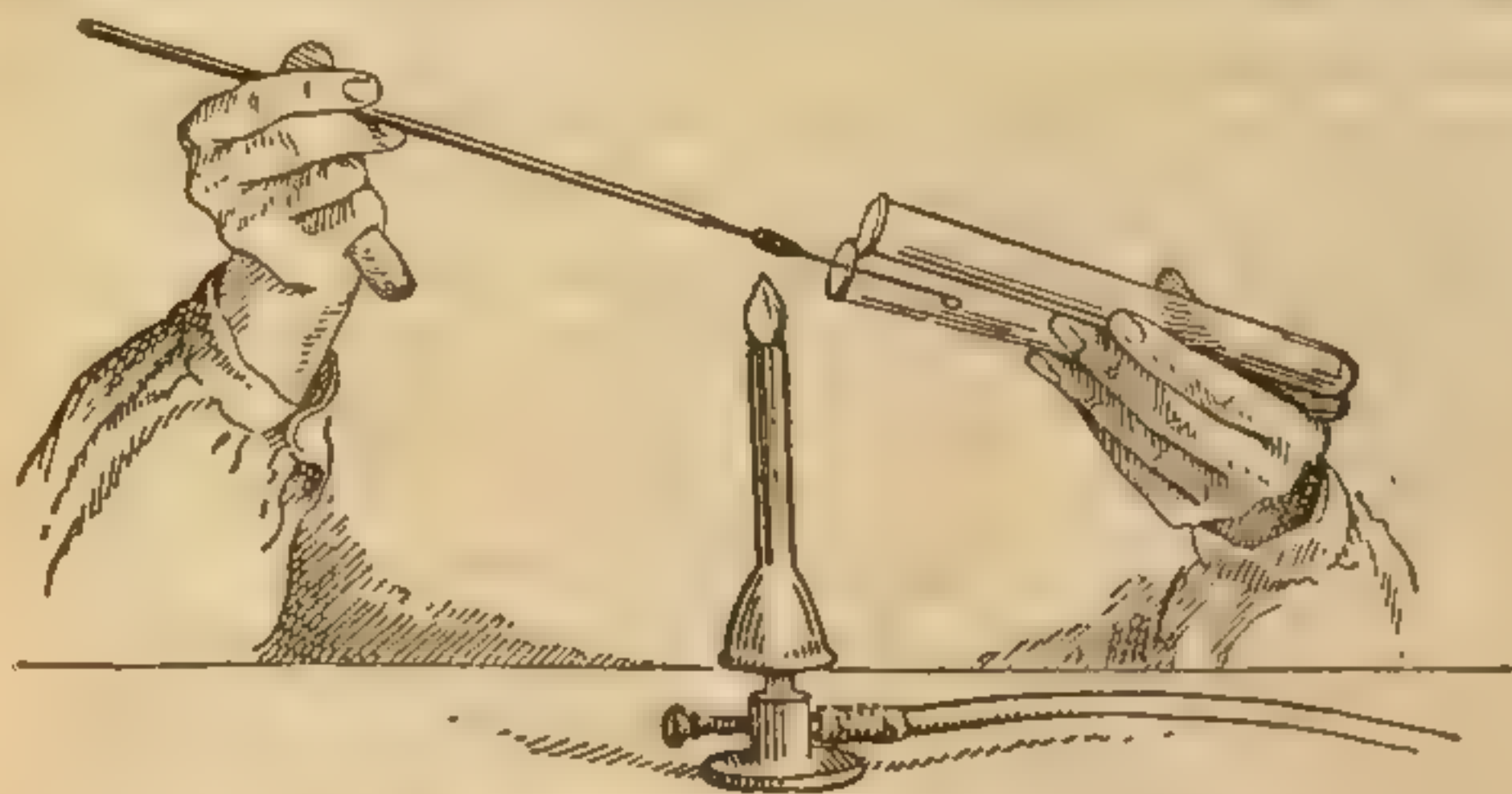


Рис. 349. Пересев из одной пробирки в другую.

бавляют редуцирующие вещества: виноградный сахар — 1—2%, муравьинокислый натрий — 0,3—0,5%, индигосернокислый натрий — 0,1% и т. д.; прибавление этих веществ уменьшает содержание свободного кислорода в средах. Методы же посева применяются различные.

а) Пробирку с высоким (не ниже 10 см) слоем бульона кипятят около 10 минут для удаления воздуха из среды, затем быстро охлаждают в вертикальном положении; тотчас же по охлаждении засевают и сохраняют по возможности в покое. Рост культуры получается на дне пробирки. Вместо бульона можно брать сахарный агар (высокий столбик), кипятить минут 20, охладить до 40—42° и затем засеять; немедленно после засева охладить на льду или в холодной воде до полного застывания в вертикальном положении и уже потом поставить в термостат. Чтобы защитить среду от проникновения кислорода, на поверхность ее после посева можно налить слой стерильного парафинового (вазелинового) масла толщиной в 1—1,5 см.

б) Способ Бухнера основан на принципе поглощения кислорода воздуха щелочным раствором пирогаллола. Засеянную и заткнутую ватной пробкой пробирку ставят в особую широкую пробирку (пробирку Бухнера, рис. 350). На дно ее предварительно насыпают 1 г пирогаллола, на который непосредственно перед помещением засеянной пробирки наливают 10 см<sup>3</sup> 10% NaOH. Вставив засеянную пробирку, тотчас же плотно закрывают наружную пробирку резиновой пробкой.

в) Способ Виньяль-Вейона. Растапливают 3—4 пробирки сахарного агара, содержащего 0,3—0,5% муравьинокислого натрия,



Рис. 350. Пробирка Бухнера.



Рис. 351. Трубки Виньяль-Вейона.



и охлаждают до 43—45°. В первую пробирку вносят петлей частицу исследуемого материала и переносят затем из одной в другую. Пробирки должны все время стоять в сосуде с водой соответствующей температуры. Затем содержимое каждой пробирки насасывают без пузырьков воздуха в стерильную узкую, длинную пастеровскую пипетку почти до самой шейки (перед насасыванием пипетку проводят через пламя, чем одновременно достигается стерилизация и прогревание, предотвращающее застывание среды во время насасывания). Нижний конец пипетки запаивают. Все засеянные пипетки помещают в стеклянный цилиндр, заткнутый ватной пробкой и ставят в термостат (рис. 351).

г) Способ Тароцци. Посев производят на среды, содержащие кусочки паренхиматозных органов (печени, селезенки, почек) или мяса

и предварительно прокипяченные в продолжение 15 минут. На таких средах анаэробы растут без особых предосторожностей. Этот способ очень прост и потому наиболее употребителен.

Перечисленные методы позволяют изучать рост только в пробирках. Для посевов в чашках Петри приходится прибегать к другим приемам.

д) Способ Аристовского. При этом методе посевы в чашках Петри с твердой питательной средой помещают

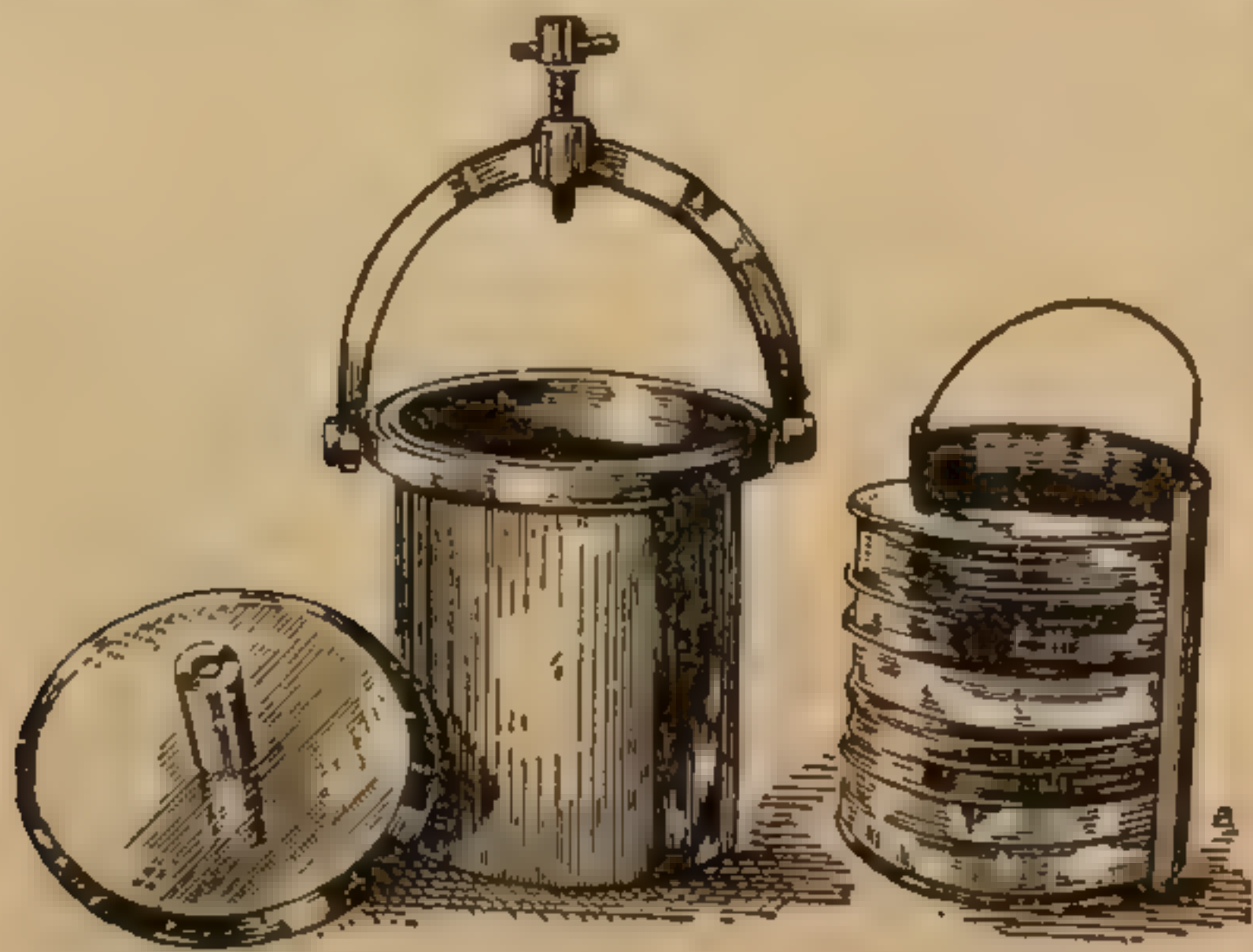


Рис. 352. Аппарат Аристовского.

в специальное ведро, которое затем вставляют в аппарат, закрывающийся герметически (рис. 352). Анаэробные условия создаются путем химического поглощения кислорода гидросульфитом натрия ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) или пиросульфитом. Оба препарата применяются в сухом виде в смеси с углекислой содой.

Крышки от чашек Петри наполняют углекислой содой. По поверхности соды насыпают тонким слоем порошок гидросульфита в количестве 1,5 г или пиросульфита 7,5 г. Порошки тщательно перемешивают и слегка увлажняют водой из пульверизатора. Одну такую крышку помещают на дно ведерка и на нее укладывают засеянные чашки Петри вверх дном одна на другую. Вторую половину чашки со смесью порошков закладывают под крышку ведерка поверх чашек Петри. Ведерко рассчитано на 7 чашек Петри. Если в него помещают меньшее количество чашек с посевами, то следует заполнить остающееся пространство резиновыми, деревянными (или какими-нибудь другими) сплошными кружками, по диаметру равными чашкам Петри. После заполнения ведро немедленно опускают в аппарат, который закрывают крышкой. Завинтив винт, проходящий через дугообразную ручку аппарата и закрепляющий крышку, аппарат помещают в термостат. Одна и та же порция соды пригодна для работы до 30 раз. Требуется возобновлять только гидросульфит.

Для проверки правильности работы аппарата в него закладывают, обматывая ручку ведерка, полоску марли, пропитанную раствором следующего состава: 4,2 см<sup>3</sup> 10% раствора глюкозы, 0,1 см<sup>3</sup> нормального раствора едкого натра, 0,1 см<sup>3</sup> 1,5% раствора метиленовой синьки.

При нормальной работе аппарата марля обесцвечивается.



е) Способ Цейссlera. Универсальным способом, позволяющим одновременно производить посевы в пробирках и на чашках, является способ Цейссlera. Цейсслер сконструировал особый сосуд в форме колокола, позволяющий выкачивать воздух насосом до давления 20—30 мм после помещения в него засеянных чашек и пробирок. В крышке аппарата имеется круглый жолоб. Когда аппарат открыт, крышку и весь аппарат держат в наклонном положении. В нижнюю (наклонную) часть жолоба наливают 100 см<sup>3</sup> 50% NaOH, в верхнюю — кладут 6 г пирогаллола, завернутого в фильтровальную бумагу. Тотчас после закрытия аппарата его приводят в вертикальное положение. При этом раствор едкого натра смочит пирогаллол, и остаток кислорода в аппарате будет поглощен щелочным раствором пирогаллола. Взамен колокола Цейссlera почти с таким же успехом можно пользоваться так называемым вакуум-эксикатором, т. е. эксикатором, позволяющим отсасывать воздух (рис. 341).

Наилучшим способом является помещение посевов в анаэроостат (стр. 643).

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

При приготовлении препаратов из культур необходимо во избежание их загрязнения соблюдать те же предосторожности, что и при посевах, т. е. работать около горящей горелки, пробирку с посевом держать наклонно, петлю или пастеровскую пипетку перед взятием материала обжигать и т. д. Материал для приготовления препаратов в случаях диффузного роста или роста в виде пленки на поверхности плотных и жидких сред берут проволоочной петлей, а в случаях придонного роста — пастеровской пипеткой. Пипетку опускают до самого дна, насасывают в нее часть осадка и плотно закрывают верхнее отверстие пальцем; затем капельку содержимого пипетки помещают на предметное стекло.

1) **Исследование микроорганизмов в живом состоянии.** Исследование микроорганизмов в живом состоянии применяется главным образом для изучения формы и подвижности бактерий, реже при реакции агглютинации.

а) **Исследование в висячей и раздавленной капле.** Исследование производится либо в висячей капле, либо в раздавленной капле, т. е. в капле на предметном стекле, покрытом покровным.

Для висячей капли необходимо иметь специальное предметное стекло с луночкой. Если имеют дело с культурой на жидкой среде, то маленькая капелька культуры прямо наносится на тщательно вымытое покровное стекло; если же имеется культура на твердой среде, то на покровное стекло предварительно наносят маленькую капельку водопроводной воды или физиологического раствора, затем петлей прикасаются к культуре и приставшие к ней бактерии размещивают в приготовленной капельке. Можно также заранее приготовить взвесь микроорганизмов в физиологическом растворе и взять капельку из нее. И в том, и в другом случае на покровное стеклышко накладывают предметное стекло с луночкой по середине, края которой предварительно обмазаны вазелином. Предметное стекло слегка прижимают к покровному, вследствие чего оба стекла склеиваются. После этого препарат перевертывают покровным стеклом кверху. Получается герметически закрытая камера, в которой капля долго не высыхает (рис. 353). Под микроскопом сначала отыскивают со слабым увеличением и при суженной диафрагме край капли, а потом уже исследуют препарат более сильной сухой системой.

При пользовании грустными предметными стеклами материал (физиологический раствор и культура) прямо наносится на предметное стекло,







и некоторые детали их строения: существование капсулы, жгутиков, спор и т. п. Техника приготовления препарата (мазка) очень проста. Из жидких культур капельку материала наносят петлей на предметное стекло. Из культуры на твердой среде петлей берут ничтожную частичку, размещают в заранее нанесенной на стекло капельке физиологического раствора или водопроводной воды и несколько размазывают. Дав препарату высохнуть на воздухе или высушив его при очень слабом нагревании, фиксируют троекратным проведением через пламя газовой или спиртовой горелки; после того как препарат остынет, окрашивают его различными способами, ополаскивают водой и осушивают фильтровальной бумагой. Сухие окрашенные препараты рассматривают исключительно с иммерсионной системой в капле иммерсионного масла.

Методы окраски микробов весьма разнообразны и многочисленны. В бактериологической работе наиболее употребительны следующие рецепты красок и способы окраски препаратов, которые в основном можно разделить на две группы: ориентировочные простые окраски и окраски дифференциальные, выявляющие химические и структурные особенности бактерий.

а) Ориентировочная окраска бактерий, выявляющая только их морфологию, хорошо удается: 1) разведенным (1:10) фуксином 10—30 секунд, 2) синькой Леффлера 3—10 минут, 3) спирто-водным раствором синьки 3—5 минут, 4) водным раствором синьки 5—10 минут.

Спирто-водный раствор метиленовой синьки: метиленовой синьки — 1 г, спирта 95° — 10 см<sup>3</sup>, дистиллированной воды — 100 см<sup>3</sup>.

Водный раствор метиленовой синьки дает нежные отчетливые препараты: метиленовой синьки — 1 г, дистиллированной воды — 1000 см<sup>3</sup>.

Щелочная метиленовая синька Леффлера — стойкий и хорошо красящий раствор: дистиллированной воды — 100 см<sup>3</sup>, 10% раствора едкого кали — 2 капли, насыщенного (7%) раствора метиленовой синьки — 30 см<sup>3</sup>; или метиленовой синьки — 3 г, спирта 95° — 20 см<sup>3</sup>, 1% едкого кали — 1 см<sup>3</sup>, дистиллированной воды — 100 см<sup>3</sup>.

Краска Штольтенберга: метилеогрюна — 2,5 г, толуидиновой синьки — 2,5 г, крепкой уксусной кислоты — 100 см<sup>3</sup>. Краску окисляют, прибавляя при растирании 20 капель насыщенного раствора двухромовокислого калия, и затем доливают дистиллированной водой до 1 л. Используется для окраски дифтерийных палочек.

б) Наиболее употребительной среди дифференциальных окрасок является окраска по Граму. При этом методе выявляется способность бактерий удерживать краску или обесцвечиваться в спирте, что связано с химической структурой микробной клетки.

1. Для выполнения окраски по Граму надо приготовить следующие растворы.

Карболовый раствор генцианвиолета или кристалвиолета: краски — 1 г, спирта 96° — 10 см<sup>3</sup>, кристаллической карболовой кислоты — 2 г, дистиллированной воды — 100 см<sup>3</sup>.

Растирают в ступке краску с карболовой кислотой до кашицы, прибавляют небольшими порциями спирт и окончательно разводят водой. Сливают в бутылку, оставляют на сутки, затем фильтруют. Или: насыщенного (4,8%) спиртового раствора краски — 10 см<sup>3</sup>, 2% карболовой воды — 100 см<sup>3</sup>.

Раствор Люголя: иодистого калия — 2 г, дистиллированной воды — 10 см<sup>3</sup>, иода кристаллического — 1 г. Смесь хорошо закупорить, оставить на сутки, после чего добавить дистиллированной воды до 300 см<sup>3</sup>.



Окраска по Граму. На фиксированный мазок накладывают кусочек фильтровальной бумаги и на нее наливают карболовый раствор генцианвиолета на  $\frac{1}{2}$ —1 минуту. Сливают краску и, не смывая, наливают раствор Люголя на 1 минуту. Сливают раствор Люголя и прополаскивают препарат в  $95^\circ$  спирте в течение  $\frac{1}{2}$ —1 минуты, пока не перестанет отходить краска. Промывают водой. Дополнительно окрашивают разведенным фуксином  $\frac{1}{2}$ —1 минуту. Сливают краску, промывают и высушивают препарат.

Видоизменение окраски Грама по Синеву. Заготавливают полоски фильтровальной бумаги, пропитанной 1% спиртовым раствором кристалвиолета и высушенной. На препарат накладывают полоску такой бумаги и наливают 2—3 капли воды. Окрашивают в течение 2 минут. Снимают бумажку пинцетом и наливают раствор Люголя на 1 минуту. Обесцвечивают спиртом. Дополнительно окрашивают разведенным фуксином.

Грамположительные микробы окрашиваются в сине-фиолетовый цвет, грамотрицательные — в розовый и красный.

## 2. Метод окраски кислотоустойчивых микробов.

Карболовый фуксин Циля: основного фуксина — 1 г, спирта  $96^\circ$  — 10 см<sup>3</sup>, кристаллической карболовой кислоты — 5 г, дистиллированной воды — 100 см<sup>3</sup>. Готовится, как описано для генцианвиолета, растиранием в ступке.

Другой метод приготовления. Берут насыщенного (10%) спиртового раствора основного фуксина — 10 см<sup>3</sup>, 5% раствора карболовой кислоты — 100 см<sup>3</sup>. Эта краска в чистом виде употребляется только для окраски кислотоустойчивых бактерий и спор. Для обычной окраски пользуются разведенным фуксином: фуксина Циля — 1 см<sup>3</sup>, дистиллированной воды — 9 см<sup>3</sup>. Окрашивает препарат  $\frac{1}{2}$ —1 минуту. Готовится ех tempore, так как быстро портится.

Окраска по Циль-Нильсену — наиболее употребительный метод окраски туберкулезных палочек. На фиксированный мазок кладут кусочек фильтровальной бумаги, не превышающий по размерам предметное стекло; наливают фуксин Циля и нагревают на горелке до отхождения паров, после чего оставляют краску, пока препарат несколько остынет. Снимают бумажку с фуксином, ополаскивают препарат водой. Опускают препарат в стаканчик с 5% серной кислотой (или 10 частей спирта и 1 часть соляной кислоты), прополаскивают до обесцвечивания. Тщательно промывают водой. Докрашивают растворами метиленовой синьки в течение 3—5 минут.

Кислотоустойчивые палочки красные, все остальные микробы — синие.

## 3. Метод окраски включений в бактериях.

Краска Нейссера. 1) Метиленовой синьки — 0,1 г,  $95^\circ$  спирта — 2 см<sup>3</sup>, ледяной уксусной кислоты — 5 см<sup>3</sup>, дистиллированной воды — 100 см<sup>3</sup>.

2) Раствор хризоидина, везувина или бисмарк-брауна: краски — 1 г, дистиллированной воды — 300 см<sup>3</sup>. Краску растворяют при подогревании воды и фильтруют.

Методика окрашивания по Нейссеру для выявления верности дифтерийных палочек. Краска Нейссера — 1 минута. Раствор Люголя — 1 минута. Промывка водой. Докраска хризоидином (или бисмарк-брауном) — 1—3 минуты. Промывка водой.

При этой окраске тела бактерий окрашиваются в нежножелтый цвет, зерна Бабеш-Эрнста — в темносиний.

в) Окраска капсул. Окраска капсул микробов может иногда иметь диагностическое значение. В мазках из органов или из тканевой жидкости капсулы можно обнаружить при помощи простой окраски ще-



лочной синькой или другими растворами метиленовой синьки. Однако специальные окраски дают более четкие препараты.

**Окраска по Ольту.** Приготавливают ex tempore 2% раствор сафранина в горячей воде и фильтруют его. Фиксированный мазок окрашивают сафранином при подогревании в течение 1—2 минут. Промывают, высушивают. Препарат рассматривают в воде: на мазок наносят каплю воды, накрывают покровным стеклом, на него кладут кедровое масло. Тело бактерий и капсула различно преломляют лучи света. Эта разница усиливается при прохождении лучей через слой воды.

Тела микробов окрашены в коричнево-красный цвет, капсулы — в бледножелтый.

**г) Окраска спор.** Наиболее простой метод подобен окраске кислотоустойчивых бактерий. Препарат, приготовленный обычным способом, при нагревании окрашивают 1—2 минуты карболовым фуксином Циля, промывают водой и обесцвечивают, погружая стекло в 2% раствор азотной кислоты в спирту или 1% водный раствор серной кислоты. Обесцвечивать надо так, чтобы на препарате не было видно следов краски. Затем промывают водой и докрашивают водным раствором метиленовой синьки. Споры окрашиваются в красный цвет.

**д) Окраска жгутиков.** Это одна из наиболее трудных процедур в бактериологической технике, так как жгутики очень легко повреждаются при приготовлении препарата. Поэтому здесь требуется особая тщательность работы. Стекла для препаратов должны быть абсолютно чисты и обезжирены. Обычно работают с новыми покровными стеклами, которые предварительно кипятят в течение 10 минут в хромовой смеси (двуххромовокислого калия — 20 г, воды — 200 см<sup>3</sup>, серной кислоты — 20 см<sup>3</sup>; приливать в указанном порядке). После кипячения стекол хромовую смесь сливают, промывают стекла 5 минут в слабом растворе едкого натра, после чего обильно промывают водой, ополаскивают спиртом и хранят в спирту (во время промывания не прикасаться к стеклам руками). Перед употреблением стекла вынимают из спирта чистым пинцетом и удаляют спирт обжиганием (ничем не вытирать стекло!).

Исследуемая культура должна быть не старше 12—18 часов. Материал берут осторожным прикосновением петли к культуре и вносят в пробирку с несколькими кубическими сантиметрами водопроводной воды, погружая петлю в воду и держа ее неподвижно некоторое время. Повторяют это 2—3 раза, пока не получится тонкая, лишь слегка опалесцирующая эмульсия. Полученной эмульсии дают постоять 15—20 минут в термостате для равномерного распределения микробов в воде. Затем платиновой петлей кладут одну каплю эмульсии на покровное стекло. Если стекло достаточно чисто, капля принимает правильную круглую форму, легко расплывается и быстро высыхает на воздухе без подогревания. Препараты фиксируют на огне и окрашивают специальными способами, причем перед окраской обрабатывают протравой, которая усиливает действие краски.

**Серебрение по Морозову.** Приготавливают 3 реактива: 1) 1 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты + 2 см<sup>3</sup> продажного формалина + 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды; 2) 5 г таннина + 1 см<sup>3</sup> жидкой карболовой кислоты (liquefaciens) + 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды; 3) 5 г кристаллического азотнокислого серебра растворить в 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, отлить 20 см<sup>3</sup> в другой сосуд, к оставшимся 80 см<sup>3</sup> раствора серебра по каплям добавлять раствор аммиака, пока не растворится образующийся осадок и останется легкая опалесценция; если аммиака будет добавлено слишком много, то из отлитых в другой сосуд 20 см<sup>3</sup> раствора серебра надо по каплям добавлять до получения нужной слабой опалесценции. Для



окраски препарата раствор серебра разводят дистиллированной водой 1:10.

Окраска препарата: наливают на 1 минуту первый реактив, сливают, промывают препарат водой, наливают второй реактив, подогревают на легком пламени до отхождения паров (одну минуту), тщательно промывают водой, 1—2 минуты при подогревании обрабатывают препарат третьим реактивом до появления темнокоричневой окраски мазка, тщательно промывают водой, высушивают. Рассматривают при помощи иммерсионной системы.

Способ Бениньетти. Готовят 3 раствора за 2—3 дня до окраски: 1) сульфата цинка — 1 г, таннина — 15 г, дистиллированной воды — 100 см<sup>3</sup>; 2) насыщенный горячий водный раствор квасцов; 3) насыщенный спиртовый раствор генцианвиолета. Непосредственно перед окраской растворы смешивают в пропорции 1-й:2-й:3-й = 5:5:3. Наливают на фиксированный мазок смешанную краску и подогревают над пламенем 2—3 минуты до появления паров. Тщательно обмывают водой и просушивают. Рассматривают с иммерсионной системой.

### СОБИРАНИЕ И ПЕРЕСЫЛКА МАТЕРИАЛА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

Правильное собирание материала имеет настолько большое значение при бактериологическом исследовании, что последнее может потерять свою ценность и привести к ложным заключениям в результате плохого сбора материала. Примеров этому можно привести много. Так, посев на дифтерию с тампона, которым не коснулись налетов, а лишь мазнули по языку и обмочили в слюне, даст, естественно, отрицательный результат со всеми вытекающими из этого последствиями в отношении лечения, изоляции и т. д.; посев испражнений с целью обнаружения брюшнотифозного бациллоносительства, если материал будет собран неправильно из толстых кишок, не выявит источника инфекции, опять-таки со всеми вытекающими из этого эпидемиологическими последствиями.

Во всех этих случаях необходимо детальное и тщательное инструктирование со стороны лаборатории. Некоторые основные положения общего порядка должны быть учтены при подобном инструктировании:

1. Материал для бактериологического исследования должен собираться насколько возможно стерильно и всегда в стерильную посуду.

2. Необходимо следить, чтобы материал соответствовал задачам исследования (см. примеры, приведенные выше).

3. Материал для посева должен быть доставлен в лабораторию как можно быстрее. Тампон с пленками из зева быстро высыхает, испражнения для исследования на дизентерию в результате аутолиза приобретают кислую реакцию, что губительно действует на возбудителей заболевания и т. д. Поэтому, если нет никакой возможности быстро доставить материал для исследования в лабораторию, следует сохранять его в леднике или в других условиях при низкой температуре, которую большинство бактерий хорошо переносит.

4. Должны быть четко указаны задачи исследования, для того чтобы в лаборатории могли быть применены соответствующие методы обработки и питательные среды. Так, материал от предполагаемых носителей засеивается дополнительно на среды обогащения, что можно опустить при диагностическом посеве материала от острых больных и т. п.

5. В лаборатории доставленный материал должен быть посеян без задержки на соответствующие свежие среды. Это имеет особое значение при исследовании на кокковую группу микробов.



Педантичное соблюдение этих правил значительно улучшает результаты исследований. Тесная связь между бактериологом и клиницистами или эпидемиологами, которые направляют материал для анализа, обеспечивает взаимное понимание и сознательное выполнение исследования.

#### ПАМЯТКА ДЛЯ РАБОТНИКОВ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ

Работники бактериологических лабораторий должны постоянно помнить о возможности при работе с заразным материалом заразиться самим и перенести заразную болезнь в свою семью, квартиру и т. д. Поэтому в работе они должны быть особенно внимательны, осторожны и опрятны. Они должны строго соблюдать все правила работы с заразным материалом, живыми культурами и зараженными животными. Более опытные работники бактериологических лабораторий должны помогать молодым товарищам усваивать правила и приемы работы и контролировать соблюдение этих правил.

Все работники, вновь поступающие в бактериологическую лабораторию, обязаны усвоить и сдать технический минимум.

#### ПРАВИЛА РАБОТЫ В БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЯХ ТАКОВЫ:

1. Никогда нельзя находиться в помещении бактериологической лаборатории, а тем более работать в ней без халата.

2. Нельзя без надобности переходить из одного помещения лаборатории в другое.

3. Каждый работник должен пользоваться только отведенным для него рабочим местом и оборудованием. Нельзя также без особой надобности переносить материал из одного лабораторного помещения в другое.

4. Категорически запрещается принимать пищу и курить в лаборатории.

5. При работе с заразным материалом и живыми культурами работники бактериологических лабораторий должны пользоваться соответствующими инструментами: пинцетами, крючками, шпателями и другими предметами, подлежащими после их использования уничтожению или обеззараживанию (прожигание на пламени горелки, кипячение и др.). Отсасывание жидкого заразного материала в пипетки рекомендуется производить не ртом, а при помощи баллонов, груш.

Всякое переливание жидкости с заразным материалом из одного сосуда в другой можно производить только над каким-либо приемником (простоквашница, таз), в который налита дезинфицирующая жидкость (растворы корболовой кислоты, лизола). Посевы и пересевы всегда надо производить, обжигая на пламени горелки края пробирок, пробки, шпатели, платиновые петли, пипетки и т. д.

6. Если разобьется посуда или разольется жидкость, содержащая заразный материал или живые культуры, необходимо сейчас же самым тщательным образом продезинфицировать загрязненное рабочее место, платье, руки. Все это надо сделать в присутствии и под контролем руководителя лаборатории, которому немедленно следует сообщить об этом. Ни в коем случае такие аварии не должны скрываться. Ликвидация последствий аварии кустарными способами может привести и нередко приводит к тяжелым внутрилабораторным заражениям персонала.

7. Все использованные предметы и материалы должны быть по возможности подвергнуты уничтожению (лучше всего сжиганием) или основательному обеззараживанию в стерилизационных аппаратах и дезинфицирующих жидкостях.

Все предметы, подлежащие обеззараживанию, собирают внутри лаборатории в специальные приемники, баки, ведра с крышками и т. д. В закрытом виде их переносят в автоклавную, где и обеззараживают обязательно в тот же день. За переносом в автоклавную и проведением стерилизации заразного материала должны следить специально выделенные ответственные работники лабораторий.

8. Работники бактериологических лабораторий должны соблюдать самую тщательную чистоту и опрятность в работе. Руки необходимо дезинфицировать и мыть не только перед едой, а как можно чаще в течение рабочего дня.



После конца работы в лаборатории дезинфекция и умывание рук производятся особо тщательно.

9. Работники лабораторий подвергаются обязательным прививкам против основных заразных болезней (в первую очередь против кишечных).

10. Заразный материал, живые культуры и заразных животных необходимо всячески оберегать от потери и расхищений, для этого все шкафы, термостаты, ледники и другие хранилища должны обязательно запираяться и после работы пломбироваться. Доступ в хранилища имеют только определенные лица.

Все живые культуры и зараженные животные подлежат обязательно ежедневному количественному учету в специальных тетрадах и книгах.

11. После работы все материалы и культуры должны быть убраны и заперты, а рабочее место приведено в полный порядок.

12. Ежедневная тщательная уборка помещения бактериологической лаборатории производится влажным путем с применением дезинфицирующей жидкости.

## ГЛАВА ВТОРАЯ

# БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

## ОБНАРУЖЕНИЕ МИКРОБОВ КОККОВОЙ ГРУППЫ

Кокки являются одной из самых распространенных групп микробов; они часто живут в носоглотке, зеве и на коже человека, не вызывая никаких страданий, и вместе с тем они же считаются возбудителями многих заболеваний. Очень долго эта особенность кокков мешала признанию их патогенности, и лишь в последние десятилетия в результате углубленного изучения биологических и серологических свойств кокков удалось выделить среди них патогенные группы и типы.

Одним из основных свойств патогенных кокков является потребность в углеводах или в животном белке для роста и размножения. Некоторые виды, например, стафилококк, более приспособлены к существованию и хорошо растут не только на простых средах, но и в мало благоприятных условиях (в присутствии желчи, на среде Эндо и т. д.). Однако большинство видов патогенных кокков требует специальных условий для выращивания. Такие строгие паразиты, как гонококки, растут лишь в присутствии человеческого белка и не размножаются при прибавлении к средам субстратов животного происхождения.

Эти соображения подсказывают необходимость производить первичный посев материала, подозрительного на присутствие патогенных кокков, в среды, содержащие углеводы или животный белок, или то и другое вместе.

Наиболее распространен метод посева исследуемого материала в сахарный бульон (1% глюкозы), на кровяной агар (простой агар, растопленный, охлажденный до 40—45°, с добавлением 5% дефибрированной крови<sup>1</sup>). Однако значительно лучшие результаты дает первичный посев в среду Тароцци, особенно при исследовании крови на стерильность (Френкель, 1946), с последующим высевом на кровяной агар.

1) **Стрептококки.** Чаще всего для обнаружения стрептококков производят посев крови и отделяемого слизистых оболочек. Может быть также произведен посев отделяемого из раны, язвы, фурункула (карбункула) или пораженного участка кожи.

<sup>1</sup> Можно пользоваться кроличьей или бараньей кровью.



Для посева крови пользуются большими количествами питательной среды (сахарный бульон или среда Тароцци) — обычно 50—100 см<sup>3</sup> в колбе или бутылке, в которую вносят 5—10 см<sup>3</sup> крови, стерильно взятой из вены. Отношение крови к питательной среде должно быть 1:10—1:20, что требуется во избежание задержки размножения микробов под влиянием антител в крови.

Отделяемое со слизистых оболочек (чаще всего из зева), из ран, язв и других поражений кожи забирают ватным тампоном на проволоке, помещают в стерильную пробирку и направляют в лабораторию. Если рана или язва покрыта гноем, его смывают и материал для посева берут из глубины. Для посева материала с кожи тампон предварительно смачивают стерильным физиологическим раствором. В лаборатории с тампона производят посев на кровяной агар, тщательно помазав по нему всеми сторонами тампона, и на сахарный бульон, в котором ополаскивают тампон после посева на кровяной агар. Посевы помещаются в термостат при 37° на 18—20 часов.

При просмотре чашки с кровяным агаром могут встретиться колонии стрептококков трех родов.

1. Колонии гемолитического стрептококка ( $\beta$ -стрептококка) имеют вид мелких образований (до 1 мм) с большой и полной зоной просветления вокруг ( $\beta$ -гемолиз). Зона гемолиза может быть в 3—4 раза больше самой колонии; при просмотре чашки под микроскопом с малой сухой системой (№ 2 или 3) в зоне гемолиза не обнаруживается эритроцитов, между тем как вокруг видны хорошо сохранившиеся кровяные клетки.

Если гемолиз выражен неполно или неясно, чашки оставляют в термостате дополнительно на 24 часа. Еще лучше поставить чашки на ночь в ледник.

В мазке из такой колонии, окрашенном по Граму (рис. 354), можно увидеть грамположительные кокки, складывающиеся в короткие цепочки (2—6 кокков). На жидкой среде гемолитические стрептококки образуют длинные цепи, что подтверждается при микроскопии мазка из бульона.

2. Зеленеющий стрептококк ( $\alpha$ -стрептококк) растет в виде таких же мелких колоний, но вокруг них имеется зона позеленения среды, обычно раза в два превышающая величину колонии. Под микроскопом при малом увеличении видны тени эритроцитов, более или менее густо заполняющие всю зону. Такую же зону изменения среды дают пневмококки, однако их колонии несколько крупнее. При микроскопии мазков, окрашенных по Граму, обнаруживается, что пневмококки отличаются вытянутой формой, редкими короткими цепочками (4 кокка), преимущественным расположением в виде диплококков. Зеленеющие стрептококки имеют округлую форму, располагаются преимущественно короткими цепочками. И те, и другие окрашиваются по Граму положительно.

3. Негемолитический стрептококк ( $\gamma$ -стрептококк) растет такими же мелкими колониями, однако без следов гемолиза вокруг. В настоящее время за этим видом стрептококка не признают патогенных свойств, хотя морфологически он не отличается от гемолитического: располагается иногда очень длинными цепями, по Граму окрашивается положительно.

а) Дифференциация гемолитических стрептококков по ферментативным и серологическим особенностям гемолитических стрептококков разделяются на несколько основных групп<sup>1</sup> (в настоящее время их насчитывается 12), внутри которых различают еще серологические

<sup>1</sup> По Ленсфильд.







Таблица 53

## Дифференциальные признаки стрептококков

Группа		Представители важнейших видов и разновидностей	Гемолиз на чашке	Фибринолиз	Рост			Редукция метиленовой синьки	Расщепление										Характеристика
по гемолизу	по Ленсфильду				на желчи 40%	при 10°	при 45°		лактозы	маннита	сахарозы	салицина	сорбита	мальтозы	рафинозы	глицерина	арабинозы	желатин	
В, иногда α	A	Str. pyogenes . . . . .	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	Гемолитические пиогенные стрептококки
	B	Str. mastitidis . . . . .	+	—	+	—	—	—	+	—	+	+	—	+	—	—	—	—	
	C	Str. equi . . . . .	+	+	+	—	—	—	+	—	+	+	+	—	—	—	—	—	
		Str. hominis . . . . .	+	+	—	—	+	—	+	—	+	+	—	+	—	—	—	—	
	D	Enterococcus . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	E	Str. pyogenes . . . . .	+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	
	F	Str. pyogenes . . . . .	+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	
	G	Str. pyogenes . . . . .	+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	
	H	Изучено очень мало представителей . . . . .	+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	
	K		+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	
	L,M		+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	
	N		+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	
			+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	
α		Str. salivarius . . . . .	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—	—	+	+	—	—	—	Зеленеющие
		Str. thermophilus . . . . .	—	—	—	—	+	+	+	—	+	+	—	—	+	—	—	—	
		Diplococcus pneumoniae . . . . .	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
γ		Str. lactis . . . . .	—	—	+	+	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	Индифферентные
		Str. cremoris . . . . .	—	—	+	+	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	
γ или α β или α	D	Str. faecalis . . . . .	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Энтерококки
		Str. liquefaciens . . . . .	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		Str. zymogenes . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		Str. durans . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	



Дифференциальные признаки стрептококков

Группа	по гемолиту	по Ленсфилду	Представители важнейших видов и разновидностей	Гемолиз на чашке	Фибринолиз	Рост			Редукция метиленовой синьки	Расщепление										Характеристика
						на желчи 40%	при 10°	при 45°		лактозы	маннита	сахарозы	салицина	сорбита	мальтозы	рафинозы	глицерина	арабинозы	желатины	
β, α, γ, иногда	A B C D E F G H K L, M		Str. pyogenes . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Гемолитические пиогенные стрептококки
			Str. mastitidis . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			Str. equi . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			Str. hominis . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			Enterococcus . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			Str. pyogenes . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			Str. pyogenes . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			Str. pyogenes . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			Str. pyogenes . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			Изнучено оченъ мало представителей . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
α			Str. salivarius . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Зеленеющие
			Str. thermophilus . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			Diplococcus pneumoniae . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
γ			Str. lactis . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Индифферентные
			Str. cremoris . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
γ или α, β или α	D		Str. faecalis . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Энтерококки
			Str. liquefaciens . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			Str. zymogenes . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			Str. durans . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	



На 4-й день просматривают посевы предыдущего дня: гемолитический стрептококк группы А не изменяет молока с синькой, не растет на желчных средах и простом агаре. Энтерококк (группа D) редуцирует синьку в молоке (обесцвечивает среду) и хорошо растет на средах с желчью и на простом агаре.

В этот же день заканчивается определение группы в реакции преципитации. Культуры стрептококка из 10 пробирок центрифугируются, бульон сливают, а осадок промывают один раз физиологическим раствором. После нового центрифугирования жидкость сливают. Осадок собирают в одну центрифужную пробирку, прибавляют  $0,4 \text{ см}^3$   $n/5 \text{ HCl}$ . Пробирку помещают в кипящую водяную баню, где она остается в течение 10 минут при встряхивании. После этого смесь охлаждают и снова центрифугируют. Прозрачную жидкость сливают в другую центрифужную пробирку, прибавляют одну каплю индикатора ( $0,01\%$  раствор фенолрота или  $0,04\%$  раствор бромтимолблау) и подщелачивают до  $\text{pH}=7,0-7,6$ , приливая по каплям  $n/5 \text{ NaOH}$ . Фенолрот окрашивает жидкость при  $\text{pH}=6,8$  в желтый цвет, переходящий при  $\text{pH}=7,6$  в красный; бромтимолблау изменяет желтый цвет (при кислой реакции) в зеленовато-голубой (бирюзовый) при  $\text{pH}=7,0$  и в голубой при  $\text{pH}=7,6$ . Нейтрализованный экстракт иногда мутнеет; тогда его снова центрифугируют до прозрачности. В 4 узкие преципитационные пробирки наливают по  $0,1-0,2 \text{ см}^3$  цельные или разведенные 1:2 сыворотки основных, часто встречающихся групп А, В, С и D (или только А и D) и осторожно, не смешивая жидкостей, по стенке приливают равное или большее количество испытуемого экстракта. При рассматривании пробирки на темном фоне должна быть отчетливо видна граница между экстрактом и сывороткой. На этой границе при положительной реакции появляется через 5—30 минут ясно видимое белое кольцо. Наблюдение ведется в течение 2 часов. Если экстракт мало насыщен (рост в бульоне был слабый), то можно поставить пробирки на 30 минут в термостат, затем вынуть и наблюдать до 2 часов при комнатной температуре.

Таким образом, идентификация стрептококка складывается из определения: 1) гемолитической способности, 2) способности редуцировать или не редуцировать синьку в молоке, размножаться или не размножаться в присутствии желчи и на обыкновенном агаре, 3) серологических свойств в реакции агглютинации на стекле или в реакции преципитации, т. е. определения группы стрептококка.

Кроме группы, можно определить серологический тип стрептококка внутри группы А. Типирование стрептококков группы А проводится также при помощи реакции агглютинации на стекле или реакции преципитации с солянокислым экстрактом. В последнем случае пользуются не пробирками, а тонкими капиллярами диаметром 1 мм, установленными вертикально. Однако в обычной диагностической работе лабораторий типирование пока не нашло применения.

2) Стафилококки. Стафилококки распространены в окружении человека и на его теле еще в большей степени, чем стрептококки. Поэтому определение вирулентности выделенной культуры в применении к стафилококку имеет очень большое значение. Долго полагали, что различие между патогенными и непатогенными стафилококками отражается в пигменте культуры. Считалось, что золотистый стафилококк всегда вирулентен, а белый является сапрофитом. В настоящее время бактериологи имеют в своем распоряжении несколько тестов, которые позволяют ориентироваться в отношении патогенности культуры стафилококков по их биохимической и биологической активности.



Рис 351 Стрептококки



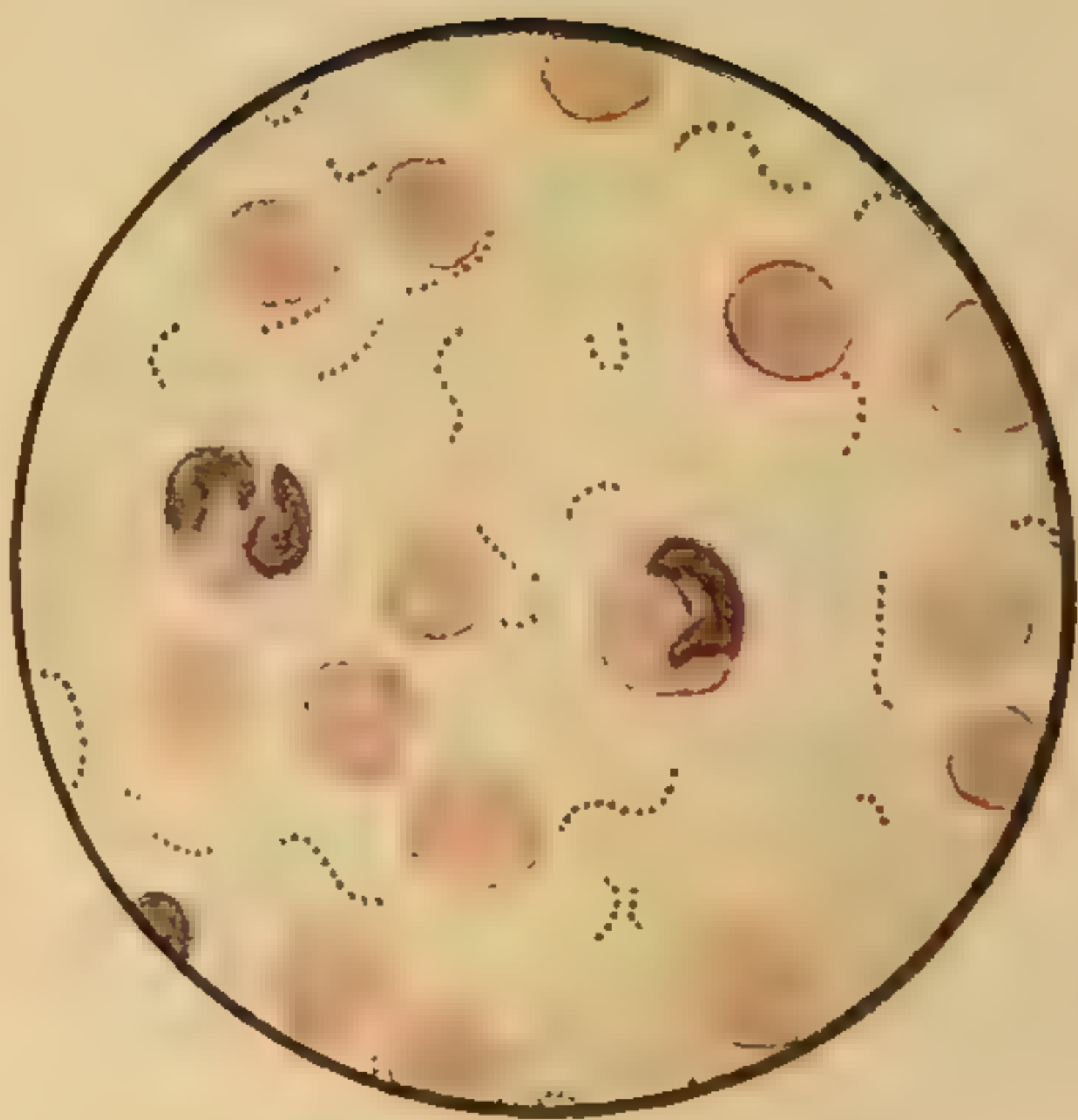


Рис. 354. Стрептококки. Окраска по Граму .

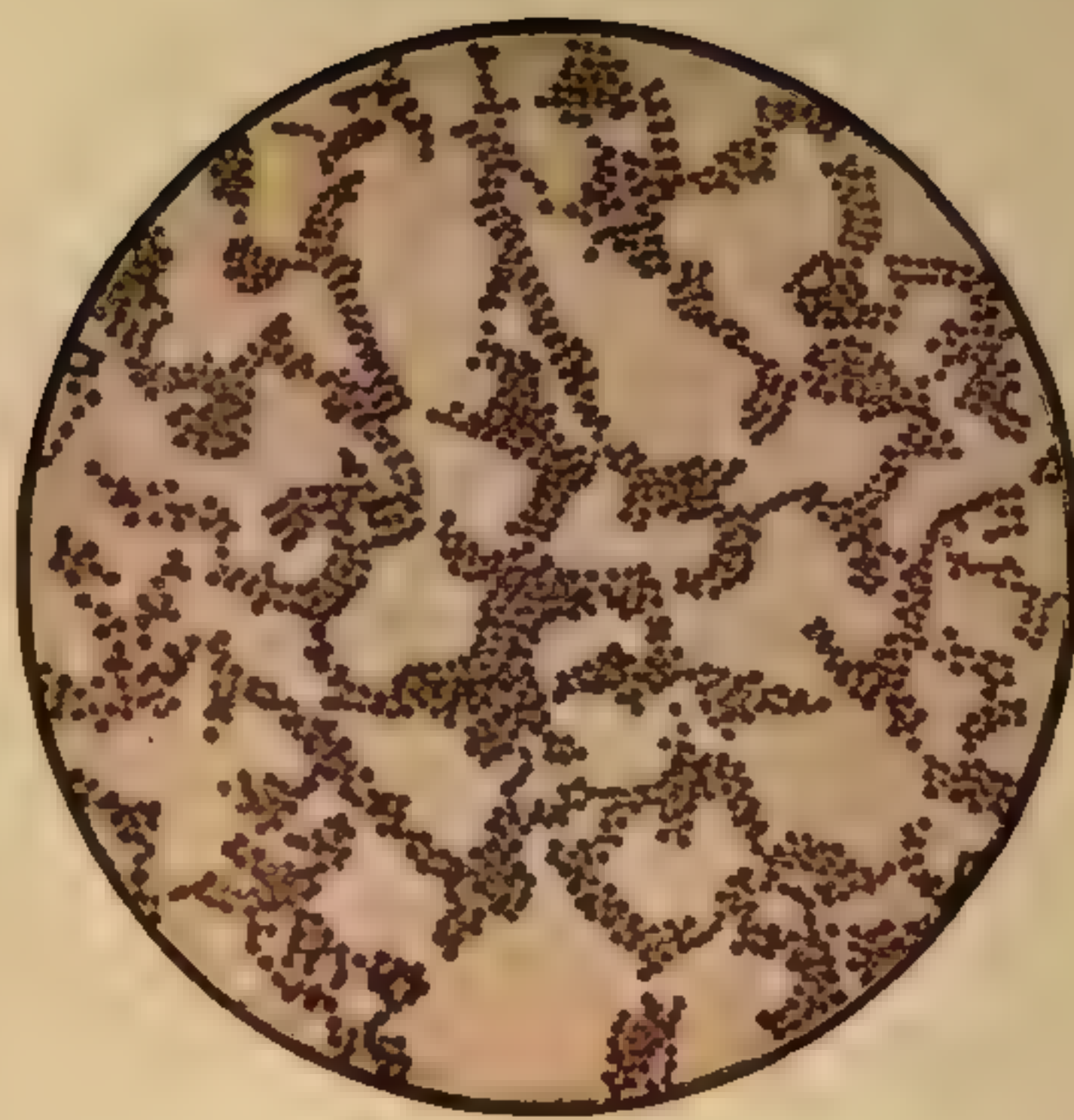


Рис. 355. Стафилококки. Окраска по Граму.

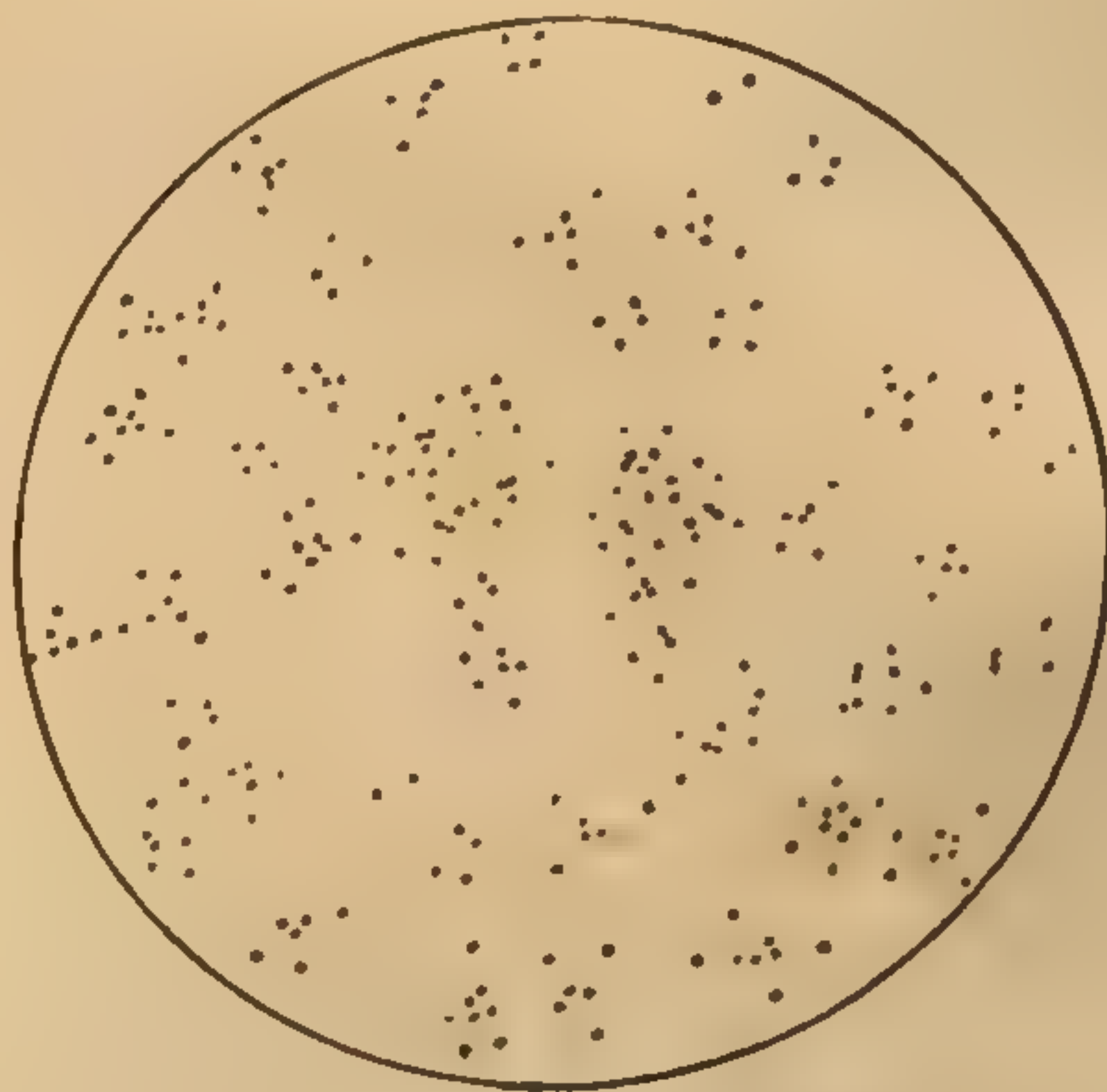


Рис. 358. Дифтерийные палочки. Окраска по Нейссеру.







Материал для исследования (кровь, уже посеянная на сахарном бульоне или среде Тароцци, гной или отделяемое из раны или слизистых оболочек или же тампон) высевают: 1) на чашку агара с 5% дефибрированной кроличьей, бараньей или человеческой кровью; 2) на чашку с простым агаром ( $pH=7,5$ ). Все чашки помещают в термостат при  $37^{\circ}$ . Из остатка материала готовят мазок, который окрашивают по Граму; при наличии стафилококка под микроскопом видны характерные гроздевидные скопления кокков, которые окрашиваются по Граму положительно (рис. 355).

Через 18—20 часов чашки вынимают и рассматривают. Приготавливают мазок, окрашивают по Граму и определяют морфологию микробов из колоний, окруженных зоной гемолиза (рис. 355). Если это стафилококки, то такую колонию пересевают на простой бульон и простой косой агар. С простого агара таким же образом пересевают колонии золотистые, желтые, палевые. Нельзя, однако, пренебрегать и белыми колониями стафилококков, если нет других. Иногда и белый стафилококк обладает вполне выраженной патогенностью. Выделенные культуры пересевают на среду с маннитом. Патогенные стафилококки часто разлагают маннит.

Кроме того, с чистой культурой ставят пробу на плазмокоагуляцию. Одну петлю чистой культуры вносят в пробирку с 1—2 см<sup>3</sup> стерильной цитратной кроличьей или человеческой плазмы. Для этого у кролика берут кровь из сердца стерильным шприцем не меньше 10 см<sup>3</sup>. Выливают кровь из шприца как можно быстрее в стерильную пробирку, в которую налит 1 см<sup>3</sup> стерильного 5% раствора лимоннокислого натрия. Хорошо перемешивают кровь и цитрат, разливают стерильной пипеткой в стерильные пробирки по 0,5 см<sup>3</sup>. Хранят на холоду. Перед посевом разводят стерильным физиологическим раствором пополам или в 4 раза. После прибавления испытуемой чистой культуры стафилококка в плазму пробирку ставят в термостат и проверяют свертывание плазмы каждые 2—3 часа. В качестве контроля ставят в термостат также пробирку с чистой плазмой без культуры и пробирку с плазмой, в которую посеян заведомо патогенный стафилококк. При свертывании плазма полностью уплотняется или в пробирке плавают большой или меньший сгусток.

Вторым признаком биологической активности стафилококка является его способность вызывать инфильтрат и некроз при введении в кожу.

Приготавливают по оптическому стандарту взвесь культуры стафилококка в физиологическом растворе на 20 млрд.<sup>1</sup> На боку или спине у кролика выщипывают шерсть и вводят строго внутрикожно 0,1 см<sup>3</sup>

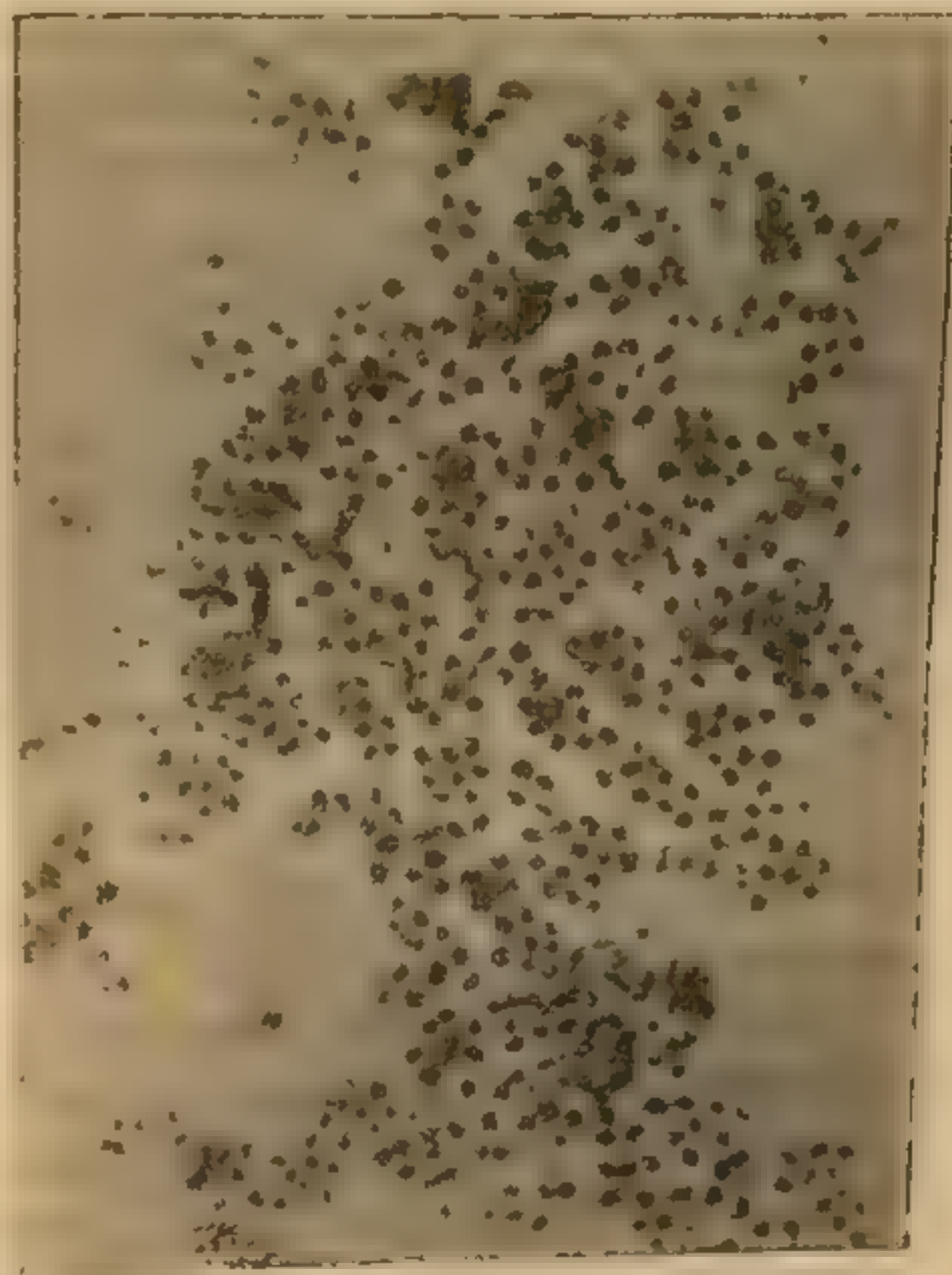


Рис. 356. Менингококки, чистая культура.

<sup>1</sup> Оптические стандарты, соответствующие различной густоте микробной взвеси, выпускаются Государственным контрольным институтом в Москве (стр. 744).



взвеси. На одном кролике можно поставить несколько проб, но не больше 4—5. Результаты отмечают через 24 и 48 часов.

Патогенные стафилококки вызывают появление инфильтрата, а затем и некроза на месте введения.

Таким образом, определение патогенного стафилококка включает изучение: 1) гемолитической способности на чашках с кровяным агаром, 2) способности ферментировать маннит, 3) способности свертывать плазму крови и 4) способности вызывать некроз при внутрикожном введении кролику.

По Гроссу, все стафилококки разделяются на три группы, которым свойственны следующие признаки.

Первая группа — патогенные: а) на чашках с кровяным агаром дают резкий гемолиз; б) при внутрикожном введении кролику вызывают резкий некроз кожи, иногда с последующей смертью животного; в) вызывают свертывание цитратной плазмы через 1—2 часа; г) продуцируют растворимый токсин; д) выделяются главным образом при сепсисе, фурункулезе, флегмонах, остеомиелитах и других гнойных заболеваниях.

Вторая группа — условно патогенные: а) на кровяном агаре дают небольшой гемолиз; б) при введении в кожу кролика вызывают красноту, иногда инфильтрат, однако никогда не доходящий до некроза; в) свертывание цитратной плазмы вызывают через 6 часов и больше; г) выделяются чаще всего с поверхностных поражений кожи, с поверхности язв и ран, но не из их глубины.

Третья группа — сапрофиты: а) не дают гемолиза на кровяном агаре; б) при внутрикожном введении не вызывают у кролика ни инфильтрата, ни некроза; в) цитратную плазму крови не свертывают; г) выделяются с поверхности кожи, со слизистых оболочек, из воздуха и с различных предметов внешнего мира.

3) Менингококки. В противоположность стафилококку и стрептококку менингококки не встречаются вне человеческого организма. Однако обнаружение их может иметь разное значение. Нахождение менингококков в спинномозговой жидкости при менингите и в крови при сепсисе выявляет микроба в качестве этиологического фактора заболевания; присутствие же менингококков в слизи носоглотки может являться в такой же мере подтверждением этиологии заболевания, как и носительства в окружении больного.

Спинномозговая жидкость берется при помощи люмбальной пункции, которая проводится лечащим врачом в условиях строгой стерильности. Обычно жидкость собирают в две стерильные пробирки: одна для общеклинического исследования, вторая — для посева. Материал доставляется в лабораторию быстро, не охлажденным. Для этого пробирку заворачивают в вату.

По 0,5—1 см<sup>3</sup> спинномозговой жидкости вносят в 2 пробирки с асцит-бульоном и на чашку Петри с асцит-агаром (или средой Бейли или Левинталя). При небольшом количестве гноя посевы производятся из осадка после центрифугирования или осаждения (в термостате). Помещают посевы и оставшуюся жидкость в термостат на 18—24—48 часов. Если через сутки рост в посевах не будет обнаружен, посев повторяют из остатка спинномозговой жидкости.

Через 18—24 часа посевы просматривают. Если роста нет, то оставляют их еще на 24 часа и добавляют, как сказано, повторные посевы. При положительном результате на чашке обнаруживается рост мельчайших сероватых колоний в большинстве случаев в чистой культуре. На бульоне



рост гомогенный, нежный. Приготавливают мазки, которые красят по Граму. В мазках обнаруживают грамтрицательные диплококки, напоминающие кофейные зерна, повернутые выемкой друг к другу (рис. 356). Если нет примеси посторонних микробов, можно смыть рост с чашки и поставить реакцию агглютинации. Для этого можно пользоваться поливалентной менингококковой сывороткой, но лучше употреблять типовые.

Как и стрептококки, менингококки разделяются на ряд серологических типов. Чаще всего встречаются типы А и В. Поэтому реакция агглютинации ставится с двумя упомянутыми типовыми сыворотками. Отсевают культуру на косой асцит-агар и ставят пробирку в термостат. На завтра вынимают пробирку; если рост хороший, отсасывают конденсационную воду, наливают в пробирку 2—3 см<sup>3</sup> физиологического раствора и осторожно смывают рост. Можно с этой целью покатавать пробирку в ладонях. Полученную взвесь пастеровской пипеткой переносят в другую пробирку. Во избежание комочков взвесь сильно встряхивают в течение нескольких минут или фильтруют через тонкий слой стерильной ваты.

Агглютинационные пробирки ставят в штатив в 2 ряда, по 4 в ряд. В первые пробирки наливают по 16 капель физиологического раствора, во вторые — по 18 капель, а в третьи — по 19 капель; прибавляют к ряду еще одну пробирку с 20 каплями физиологического раствора. В отдельных пробирках приготавливают основные разведения агглютинирующих сывороток типа А и В: 9 капель физиологического раствора + 1 капля сыворотки (1:10). Затем, хорошо перемешав, разливают в первый ряд пробирок сыворотку А, а во второй — сыворотку В, по 4 капли в первые пробирки, по 2 капли во вторые, по 1 капле в третьи. Получают разведения сывороток 1:50; 1:100 и 1:200. Приготовленную взвесь менингококков прибавляют в каждую пробирку по 1—2 капли. Пробирки встряхивают и ставят в термостат на 18—24 часа.

На следующий день отмечают появление агглютината, который выпадает в виде зерен и хлопьев, причем жидкость теряет свой мутный вид и просветляется. Появление агглютината уже в пробирке с разведением сыворотки 1:50 считается диагностически доказательным.

Можно поставить реакцию агглютинации быстрым способом. В 3 пробирки наливают по 2 капли густой исходной взвеси менингококков. В первую пробирку добавляют 2 капли сыворотки А (цельной), во вторую — 2 капли сыворотки В, в третью — 2 капли нормальной кроличьей сыворотки или физиологического раствора. Встряхивают пробирки вместе со штативом в течение 5 минут, после чего добавляют в каждую по 16 капель физиологического раствора и оставляют на полчаса на столе. Результаты физиологического раствора и оставляют на полчаса на столе. Результаты прочитывают простым глазом, с лупой или в агглютиноскопе. Агглютинат выпадает так же, как при постановке развернутой агглютинации.

Слизь из носоглотки с целью определения носительства менингококков снимается стерильным ватным тампоном, укрепленным на проволоке, изогнутой под углом в 150°. Язык прижимают шпателем, осторожно, не задевая языка и миндалин, вводят тампон за мягкое небо и снимают им слизь со стенок носоглотки, после чего, также остерегаясь задеть язык или миндалины, выводят тампон обратно. Выпрямляют проволоку или, наоборот, сгибают ее вдвое и вставляют тампон в стерильную пробирку. Такой материал для посева должен быть доставлен в лабораторию возможно быстрее; пробирку при этом завертывают в вату во избежание охлаждения.

В лаборатории тампоном размазывают слизь последовательно по 4 чашкам Петри с асцитным или сывороточным агаром или с другими рекоменда-



дованными ранее средами. Ставят в термостат. На следующий день просматривают чашки, выделяют подозрительные колонии на косой асцитный или сывороточный агар. Дальнейшее исследование ведется, как описано выше. Однако следует иметь в виду, что в носоглоточной слизи встречаются диплококки, морфологически сходные с менингококком (катарральный микрококк и др.). Поэтому полезно проверить выделенную культуру на средах с углеводами<sup>1</sup> и пересеять на простой агар. Вульгарные кокки растут на простом агаре и по-разному ферментируют углеводы. Менингококки совершенно не растут на простом агаре, разлагают только глюкозу и мальтозу (табл. 54).

Таблица 54

Биохимические свойства грамотрицательных диплококков

Вид микроба	Среды с:			
	глюкозой	мальтозой	левулезой	сахарозой
<i>Meningococcus</i>	+	+	—	—
<i>Micrococcus catarrhalis</i> . . . . .	—	—	—	—
<i>Micrococcus cinereus</i> . . . . .	—	—	—	—
<i>Micrococcus siccus</i> . . . . .	+	+	+	—
<i>Micrococcus pharyngeus</i> I, II . . . .	+	+	+	—
<i>Micrococcus pharyngeus</i> III . . . .	+	+	—	—
<i>Diplococcus crassus</i> . . . . .	+	+	+	+
<i>Gonococcus</i> . . . . .	+	—	—	—

Условные обозначения: + ферментирует углевод  
— не ферментирует углевод

4) Пневмококки — см. главы «Биологические методы исследования» и «Мокрота».

5) Гонококки — см. главу «Возбудители венерических заболеваний».

## ОБНАРУЖЕНИЕ ПАЛОЧКИ ДИФТЕРИИ

Лабораторное исследование на дифтерию производится с целью: 1) постановки диагноза острого заболевания или установления бациллоносительства, 2) определения вирулентности (токсигенности) дифтерийных палочек.

1) **Взятие материала и посев на сыворотку.** Материал для исследования (чаще всего из зева или носа) берется стерильным ватным тампоном лучше всего на границе между пораженным участком и здоровой слизистой оболочкой. Не следует брать материал непосредственно после приема пищи или полоскания дезинфицирующими растворами. Желательно сразу же после взятия материала произвести посев. Если же материал пересылается в лабораторию, то рекомендуется снимать его тампоном, увлажненным физиологическим раствором или 15% раствором глицерина в физиологическом растворе. Желательно, чтобы время между взятием

<sup>1</sup> Для посева менингококковой культуры к обычным средам Гисса стерильно прибавляют по 0,25 см<sup>3</sup> асцита или нормальной сыворожки в каждую пробирку и до посева в течение суток контролируют в термостате на стерильность.



материала и посевом не превышало 5 — 6 часов. Посев производится в пробирку со свернутой кровяной сывороткой или сывороткой Леффлера; при посеве тампон поворачивается всеми сторонами и тщательно втирается в поверхность питательной среды.

Если у одного и того же больного берут материал из разных источников (чаще всего из зева и носа), то его снимают разными тампонами и засевают в отдельные пробирки и только при недостатке питательной среды засевают материал из зева и носа в одну пробирку. Посевы ставят в термостат при 37°. Через 18 — 20 часов роста в положительных случаях на поверхности среды видны многочисленные бисерные близко расположенные друг к другу колонии. Поверхность посева имеет характерный шагреньевый вид.

**2) Бактериоскопическое исследование.** Из выросшей культуры берут петлей материал, вносят его в каплю физиологического раствора на предметном стекле и делают тонкий мазок; подсушивают его на воздухе, фиксируют на пламени и окрашивают. Из каждой культуры делают два мазка на разных предметных стеклах. На одном стекле можно сделать несколько мазков, которые необходимо пронумеровать.

При наличии слабого роста и при исследовании материала от бактерионосителей посев оставляют в термостате еще на 24 часа.

Мазки окрашивают метиленовой синькой Леффлера или краской Штольтенберга. Обе краски стойки и окрашивают в течение 2 — 3 минут. В положительных случаях под микроскопом среди банальной (преимущественно кокковой) микрофлоры зева или носа видны характерные скопления дифтерийных палочек в виде войлока. Дифтерийные палочки полиморфны, часто заострены или утолщены на концах, обыкновенно располагаются под углом друг к другу в виде растопыренных пальцев; нередко

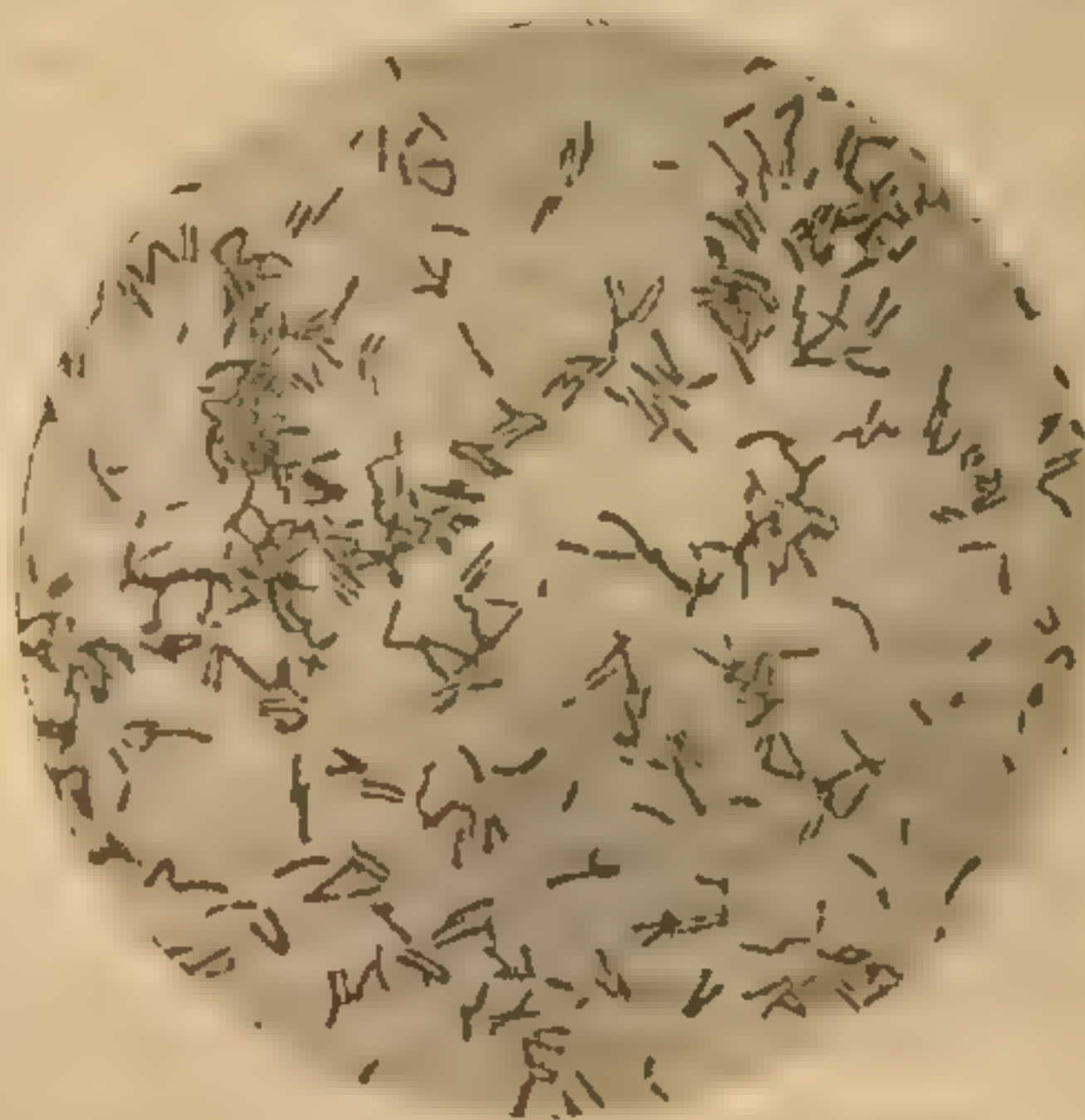


Рис. 357. Дифтерийные палочки.

тело палочки окрашивается неравномерно (рис. 357). Иногда уже при одномоментной окраске можно отличить на концах палочек круглые зерна, окрашивающиеся темнее, чем остальное тело палочки. Эти зерна (тельца Бабеш-Эрнста), представляющие собой скопления запасного питательного вещества — волютина, очень ясно видны при окраске двухмоментным способом Нейссера, к которому прибегают в сомнительных случаях (рис. 358). При окраске второго мазка по Нейссеру тела палочек окрашиваются в светлокориновый цвет, а зерна Эрнста — в темносиний. К окраске по Нейссеру прибегают и в тех случаях, когда встречаются лишь единичные подозрительные палочки. При большом опыте нередко удается поставить диагноз уже при окраске одномоментным способом, не прибегая к способу Нейссера.

При микроскопировании мазка приходится дифференцировать дифтерийную палочку от похожих на нее псевдодифтерийных и главным образом от палочки Гофмана. Последняя характеризуется отсутствием полиморфизма, равномерным окрашиванием, параллельным (палисадным) расположением палочек. Зерна Бабеш-Эрнста или отсутствуют, или не характерны: в па-



палочке может быть только одно зерно на одном из концов или, наоборот, несколько зерен, расположенных по всей длине палочки. Кроме того, диаметр зерен меньше, чем у дифтерийной палочки, у которой зерна Бабеш-Эрнста представляются в виде утолщений клеточного тела.

По требованию лечащего врача лаборатория производит предварительное бактериоскопическое исследование мазка непосредственно с тампона. В этом случае сначала делают тампоном мазки на двух предварительно прокаленных и охлажденных предметных стеклах, а затем используют тот же тампон для посева на сыворотку. Бактериоскопическое исследование требует большой опытности, так как в предварительном мазке редко встречаются типичные дифтерийные палочки в достаточном количестве. Не всегда помогает и окраска второго мазка по Нейссеру. Но вместе с тем надо помнить, что положительный результат предварительного исследования очень ценен для лечащего врача, так как он ускоряет диагноз на целые сутки. Кроме того, при бактериоскопическом исследовании на основании присутствия спирохет и веретенообразных палочек можно поставить диагноз ангины Плаут-Венсана, который нельзя поставить при бактериологическом исследовании, так как возбудители этого заболевания не растут при обычных условиях аэробного посева на сыворотку.

**3) Ускоренный метод.** Ускоренный метод (Фолгера) позволяет иногда поставить бактериологический диагноз дифтерии через несколько часов после взятия материала. При этом методе рост дифтерийных палочек происходит на самом тампоне, смоченном питательной средой. Стерильный ватный тампон смачивают стерильной бычьей или лошадиной сывороткой. Для свертывания сыворотки пробирку с вложенным в нее тампоном помещают на 30 минут в водяную баню при 80—90°. Тампон можно сохранять на леднике до 2 недель.

Таким тампоном снимают материал с пораженного участка и пробирку с тампоном помещают в термостат (37°). Через 4—5 часов роста делают тампоном мазки на двух предварительно прокаленных и охлажденных предметных стеклах. Мазки окрашивают, как обычно, одномоментным способом а, если нужно, то и по Нейссеру. Оценка результатов в этом случае требует известного опыта, так как молодые дифтерийные палочки не так типичны, как в 18—20-часовой культуре, и при окраске по Нейссеру в них редко обнаруживаются зерна Бабеш-Эрнста. Если через 4—5 часов не удастся с уверенностью поставить диагноз, то этим же тампоном делают посев на свернутую сыворотку и производят исследование в обычный срок.

**4) Биохимические свойства.** При идентификации чистой культуры дифтерийной палочки для отличия ее от псевдодифтерийной и палочки Гофмана ценную услугу оказывает исследование биохимических свойств (отношение к углеводам) выделенной чистой культуры. Исследование проводится на водно-сывороточной среде: 20% лошадиной или

Таблица 55

Глюкоза	Мальтоза	Сахароза	Вид микроба
+	+	—	Дифтерийная палочка
+	+	+	Псевдодифтерийная палочка
—	—	—	Палочка Гофмана



бычьей сыворотки, 80% дистиллированной воды с добавлением 0,5% соответствующего углевода и 1% индикатора Андреса,  $pH = 7,4-7,6$ . Ферментация углеводов выражается в покраснении и свертывании среды.

Для отличия дифтерийной палочки от псевдодифтерийной и палочки Гофмана пользуются коротким цветным рядом (табл. 55).

На основании реакций ферментации углеводов можно также установить два основных биологических типа дифтерийной палочки: *gravis* и *mitis*. Для этого пользуются длинным рядом углеводов (табл. 56).

Таблица 56

Глюкоза	Мальтоза	Сахароза	Галактоза	Крахмал	Гликоген	Тип
+	+	=	+	±	±	<i>Gravis</i> <i>Mitis</i>

5) **Определение вирулентности (токсигенности) культур.** Определение вирулентности, или, вернее, токсигенности, дифтерийных культур производится в тех случаях, когда культура, морфологически идентичная с дифтерийной палочкой, выделена при экстрафауциальной дифтерии (из носа, глаза, уха, раны, половых органов) или у носителей с целью определения их эпидемиологической значимости.

Определение вирулентности производится на свинках путем внутрикожного или подкожного введения культуры. При этом предпочтительнее пользоваться чистой культурой, но можно также и первичной смешанной, что обычно гораздо проще, хотя и менее надежно.

Для выделения чистой культуры первичную смешанную культуру рассеивают в чашке с сывороточным агаром (10—15% лошадиной или бычьей сыворотки) и ставят на 18—20 часов в термостат (37°). Мелкие колонии с небольшим уплотнением отсеивают на пробирки со свернутой сывороткой. Выросшие культуры проверяют на мазках.

Внутрикожный метод определения вирулентности. Опыт ставят на 2 свинках. Одной из них (контрольной) накануне опыта вводят внутрибрюшинно 1000 АЕ антитоксической сыворотки. В день опыта у обеих свинок удаляют шерсть (выбрасывают или выщипывают) на боковых поверхностях тела, ближе к спинке, и вводят внутрикожно 0,2 см<sup>3</sup> взвеси 18-часовой испытуемой культуры в физиологическом растворе. Взвесь должна содержать около 100 млн. микробов в 1 см<sup>3</sup> по оптическому стандарту. На одной свинке можно таким путем испытать несколько культур (6—8—10, в зависимости от величины свинки). Расстояние между отдельными пробами должно быть не менее 3 см. Реконструкция между отдельными пробами должна быть не менее 3 см. Реконструкция одновременно с испытуемыми культурами поставить такую же пробу с заведомо токсигенной культурой. Удобно ставить пробы с одной и той же культурой на симметричных участках кожи опытной и контрольной свинок.

Рекомендуется через 4—5 часов после постановки опыта ввести опытной свинке внутрибрюшинно 125 АЕ. Эта доза антитоксина не препятствует развитию реакции, но предохраняет свинку от гибели.

Если внутрикожную пробу на вирулентность ставят с первичной смешанной культурой, то суспензия бактерий должна содержать по оптическому стандарту 200 млн. бактерий в 1 см<sup>3</sup>. В кожу вводят 0,2 см<sup>3</sup> бактериальной суспензии. Контрольной свинке накануне вводят внутрибрюшинно 500 АЕ антитоксина.



Реакцию на внутрикожное введение дифтерийных палочек наблюдают в течение 3 дней. Могут наблюдаться различные степени воспалительной реакции: гиперемия, инфильтрат и некроз. Положительным результатом считается только некроз кожи, гиперемии и инфильтрату не придается значения.

Внутрикожный метод определения вирулентности в большинстве случаев является надежным. Иногда же получаются нечеткие результаты: реакция опытной свинки мало отличается от реакции контрольной. Особенно часто это наблюдается при пользовании смешанной культурой, которая может содержать мало дифтерийных палочек, но много сопутствующих микробов, которые могут сами по себе вызывать сильную воспалительную реакцию.

Во всех сомнительных случаях прибегают к подкожному методу заражения, который является более точным. Для опыта берут 2 морские свинки весом 250—300 г. Контрольной свинке накануне вводят внутрибрюшинно 1000 АЕ антитоксина. Взвесь культуры (чистой или смешанной) вводят свинкам под кожу в вышеуказанных концентрациях в объеме 0,2 см<sup>3</sup>. При введении токсигенной дифтерийной культуры опытная свинка погибает в течение 2—5 дней. На вскрытии обнаруживается характерная патологоанатомическая картина (инфильтрат на месте впрыскивания, увеличение и гиперемия надпочечников, серозный экссудат в плевральной полости). Контрольная свинка остается в живых.

## ОБНАРУЖЕНИЕ МИКРОБОВ ТИФОЗНО-ПАРАТИФОЗНОЙ ГРУППЫ

1) Общие указания к исследованию. Среди лабораторных исследований при инфекционных заболеваниях обнаружение возбудителей брюшного тифа и паратифов занимает значительное место. Это исследование имеет не только диагностическое, но и большое эпидемиологическое значение. Своевременный диагноз брюшного тифа позволяет быстро госпитализировать больного, что уменьшает тяжесть и длительность заболевания, и предпринять все необходимые мероприятия эпидемиологического порядка; с другой стороны, тщательный контроль перед выпиской выявляет бациллоносителей, которые в дальнейшем требуют наблюдения и бактериологического контроля в профилактических целях.

В отношении определения вида возбудителя единственным методом является лабораторное исследование, так как клиническое течение заболевания не всегда позволяет отличать брюшной тиф от паратифа А или В. Еще большую роль играют результаты лабораторного исследования при стертых и неясных формах заболевания, которые встречаются достаточно часто.

Из сказанного ясно, что крайне важно не пропустить возможность обнаружения тифозных и паратифозных бактерий у подобных больных. С этой целью прежде всего необходимо в каждый период заболевания исследовать соответствующий материал.

Учитывая развитие инфекционного процесса, выделить брюшнотифозного или паратифозного микроба легче всего: 1) из крови — на первой и второй неделе заболевания (бактериемия); 2) из испражнений — начиная с 3-й недели заболевания и у бациллоносителей; 3) из мочи — с конца второй недели заболевания, а также у некоторых бациллоносителей; 4) из желчи (дуоденального содержимого) — в течение всего заболевания, т. е. одновременно с бактериемией и вплоть до периода реконвалесценции, а



также у бациллоносителей; 5) из розеол — во все время их существования; 6) из гноя, экссудатов, спинномозговой жидкости — при наличии осложнений, по специальным показаниям; 7) из трупа — в материале, добытом из желчного пузыря и селезенки.

Естественно, что указанные сроки представляют схематическое обобщение и в каждом индивидуальном случае могут изменяться, в зависимости от тяжести течения болезни, возникновения рецидивов, осложнений и т. д.

Обнаружение тифозных или паратифозных бактерий в крови всегда является показателем острого заболевания; у здоровых людей или людей, выздоровевших от брюшного тифа, микробы в крови не циркулируют.

Нахождение же этих микробов в испражнениях, моче или желчи может иметь двойное значение: оно является либо свидетельством текущего заболевания, либо доказательством временного или хронического бациллоносительства. В первом случае обнаружение возбудителя совпадает с клиническими явлениями, выраженными и типичными в большей или меньшей степени, во втором — не наблюдается никаких симптомов заболевания.

Выделение тифозных и паратифозных бактерий проводится по одной и той же схеме, какой бы исходный материал ни был доставлен для исследования. Различия заключаются лишь в способе собирания материала и его первичном посеве.

Ввиду того что морфологические различия между микробами кишечной группы не позволяют различить их по видам, основными признаками для их идентификации служат биохимические и серологические свойства.

Биохимические свойства кишечных микробов определяются по их способности ферментировать углеводы, образовывать индол и сероводород, подкислять или подщелачивать молоко.

В группе тифозных и паратифозных микробов (род *Salmonella*) в настоящее время насчитывается более 100 известных представителей, которые разделяются на несколько групп соответственно антигенной структуре. У грамтрицательных бактерий различают жгутиковые (H) антигены, находящиеся на поверхности жгутиков, и соматические (O) антигены, расположенные на поверхности тела бактерий (сомы). Жгутиковые антигены белковой природы, термолабильны, а соматические представляют собой термостабильные, стойкие комплексы, состоящие из полисахаридов, липоидов и небольших количеств азотистых веществ. Качественные и количественные сочетания этих компонентов своеобразны и постоянны для каждого вида, и это своеобразие сообщает антигенам видовую серологическую и иммунологическую специфичность.

В патологии человека активную роль играют лишь немногие виды из рода *Salmonella*. Эти виды объединяются пятью группами, которые различаются между собой по соматическому антигенному комплексу. В табл. 57 представлены морфологические и ферментативные свойства, а также антигенная структура наиболее часто встречающихся представителей рода *Salmonella*.

2) **Методика исследования.** а) Исследование крови. Кровь для бактериологического исследования берется стерильным шприцем из локтевой вены и засеивается на одну из приведенных ниже сред.

Во избежание влияния бактерицидных свойств крови необходимо разводить ее большим количеством среды. Поэтому обычно сохраняют соотношение между засеваемой кровью и средой, как 1:10. С другой стороны, чем большие количества крови используются для посева, тем больше шансов на успех. Таким образом, кровь для исследования на



Схема культуральных свойств и антигенной структуры представителей рода *Salmonella*, встречающихся у человека

Группа по Кауфману	Вид	Подвижность	Лактоза	Глюкоза	Манинит	Мальтоза	Сахароза	Раиноза	Желатина	Молоко с лакмусом или лакмусовая сыворотка	Образование		Антигены		
											серо- водо- рода	индоля	сомати- ческие	жгутиковые	
														специ- фиче- ские	неспе- цифи- ческие
A	<i>S. paratyphi A</i> . . . . .	+	—	кг	к	к	—	—	—	Слабо кислит	—	—	(I), II	a	—
B	<i>S. paratyphi B</i> . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	±	—	Кислит, позднее образует щелочь	+	—	(I), IV, (V)	b	1, 2...
	<i>S. typhi murium (aertrycke)</i> . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	То же	+	—	(I), IV, (V)	i	1, 2, 3
	<i>S. heidelberg.</i> . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	» »	+	—	IV, V	r	1, 2, 3...
	<i>S. derby</i> . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	» »	+	—	(I), IV	f, g	—
	<i>S. essen</i> . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	—	—	Неизвестно	—	—	IV	g, m	—
C	<i>S. paratyphi C</i> . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	—	—	Кислит, потом образует щелочь	+	—	VI, VII	c	1, 5...
	<i>S. cholerae suis (suipestifer)</i> . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	—	—	Слабо кислит	—	—	VI, VII	c	1, 3, 4, 5...
	<i>S. cholerae suis var. Kunzendorf</i> . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	—	—	То же	+	—	VI, VII	—	—
	<i>S. newport</i> . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	Кислит, потом образует щелочь	+	—	VI, VIII	(e, h)	1, 2...
D	<i>S. morbificans bovis</i> . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	±	—	То же	+	—	VI, VIII	r	1, 5...
	<i>S. typhi</i> . . . . .	+	—	к	к	к	—	—	—	Слабо кислит	+	—	IX	d	—
	<i>S. enteritidis (Jena)</i> . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	Слабо кислит, потом образует щелочь	+	—	IX	g, m	—
	<i>S. enteritidis var. Kiel</i> . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	—	—	То же	+	—	IX	g, o, m	—
	<i>S. enteritidis var. moscow (N<sub>2</sub>)</i> . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	» »	+	—	IX	g, o, q	—
E	<i>S. senftenberg</i> . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	» »	+	—	I, III, XIX	g, s, t	—

Условные обозначения: к — кислота; кг — кислота, газ,

Условные обозначения: к — кислота; кг — кислота, газ.

Кровь можно за-  
лить флакон  
и можно постула-  
и поверхности атта-  
и держивания пос-  
из, Ошер, 1930)  
Бинкин дет-  
который метод  
с прарательным  
тесного агар  
флаконы стер-  
менно стерилиз-  
в пробирки. По-  
ливается. По-  
риously, зас-  
вается. Плива-  
300°  
о желчно  
вают сутки  
поверхности  
флаконы, о-  
- 10 см<sup>3</sup>  
в в см<sup>3</sup>  
орошат у  
и другую  
совую  
агар с т.  
обнаружи-  
с т.т.  
между аг-



Схема культуральных свойств и антигенной структуры представителей рода *Salmonella*, встречающихся у человека.

Таблица 57

Группа по Кауфману		Вид	Подвижность							Молоко с лакмусом или лакмусовая сыворотка	Образо- вание		Антигены		
Лактоза	Гля коза		Маннит	Мальтоза	Сахароза	Рамноза	Желатина	серо- водо- рода	индола		сомати- ческие	спец. фиче- ские	жгутиковые	неспе- цифи- ческие	
A	S. paratyphi A . . . . .	+	—	кг	к	к	—	—	Слабо кислит Кислит, позднее образует щелочь То же » » » Неизвестно Кислит, потом образует щелочь Слабо кислит То же Кислит, потом образует щелочь То же Слабо кислит То же Слабо кислит, потом образует щелочь То же » » »	—	—	(D, II	a	—	
	S. paratyphi B . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+		—	(D, IV, (V)	b	1, 2...		
	S. typhi murium (aertrycke) . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+		—	(D, IV, (V)	1	1, 2, 3		
	S. heidelberg. . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+		—	IV, V	г	1, 2, 3...		
	S. derby . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+		—	(D, IV	f, g	—		
B	S. essen . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	IV	g, m	—			
	S. paratyphi C . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	VI, VII	c	1, 5...			
	S. cholerae suis (suiprestifer) . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	—	—	VI, VII	c	1, 3, 4, 5...			
	S. cholerae suis var. Kunzendorf . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	VI, VII	—	—			
	S. newport . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	VI, VIII	(e, h)	1, 2...			
C	S. morbillans bovis . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	VI, VIII	г	1, 5...			
	S. typhi . . . . .	+	—	к	к	к	—	+	—	IX	d	—			
	S. enteritidis (Jena) . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	IX	g, m	—			
	S. enteritidis var. Kiel . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	IX	g, o, m	—			
	S. enteritidis var. moscow (N <sub>2</sub> ) . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	IX	g, o, q	—			
D	S. enteritidis var. moscow (N <sub>2</sub> ) . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	IX	g, o, q	—			
	S. enteritidis var. moscow (N <sub>2</sub> ) . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	IX	g, o, q	—			
E	S. seftenberg . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	I, III, XIX	g, s, t	—			
	S. seftenberg . . . . .	+	—	кг	кг	кг	—	+	—	I, III, XIX	g, s, t	—			

Условные обозначения: к — кислота; кг — кислота, глз.

Условные обозначения: к — кислота; кг — кислота, газ.



присутствие бактерий тифозно-паратифозной группы следует брать в количестве 10—20 см<sup>3</sup>. Такое количество крови следует сеять в 100—200 см<sup>3</sup> стерильной бычьей желчи. Однако в тех случаях, когда нельзя достать такие большие количества желчи, особенно для массовых исследований, можно рекомендовать способ Кайзера, по которому 2—2,5 см<sup>3</sup> крови засеваются непосредственно у постели больного в 5—10 см<sup>3</sup> желчи, хотя при этом шансы на положительный результат уменьшаются. Можно также применить различные модификации питательных сред, пригодных для этой цели: 1) бульон с 10% желчи; 2) бульон с 0,25% глюкозы и 2—3 см<sup>3</sup> желчи на 100 см<sup>3</sup> среды; 3) желчи 10 см<sup>3</sup>, лактозы 10 г, пептона 10 г, поваренной соли 10 г, воды 1000 см<sup>3</sup>.

В СССР распространена желчная среда Рапопорт (Рапопорт и Вайнтрауб, 1933). Засевается 5—10 см<sup>3</sup> крови на 50—100 см<sup>3</sup> среды. При росте микробов тифозно-паратифозной группы в первоначально желтоватой прозрачной среде появляется помутнение, на стенках и дне колбочки лежит грязноватобелый осадок белков крови, выпавших в среде, подкисленной продуктами обмена бактерий. Цвет жидкости постепенно меняется на красный, что особенно заметно в поплавке. При наличии паратифозных микробов в поплавке появляется пузырек газа.

Индикатор Андреса может быть заменен 0,1%—1,6% спиртового раствора бромкрезолпурпура. При этом индикаторе первоначальный фиолетовый цвет среды в положительном посеве переходит в желтый. Чувствительность индикатора выше, чем у фуксинового, и изменение цвета гораздо резче.

Кровь можно засевать в желчь, налитую как конденсационная вода в плоский флакон со скошенным агаром. Вместо пересевов достаточно наклонять флакон настолько, чтобы желчь смочила поверхность агара. Так можно поступать с посевами ежедневно впредь до получения роста на поверхности агара или окончания срока, принятого лабораторией для выдерживания посевов крови в термостате (Кошкин, Гарфункель, Мительман, Ошер, 1930).

Блинкин детально разработал и усовершенствовал ускоренный индикаторный метод гемокультуры. По его предложению, в плоские флаконы с параллельными стенками емкостью 250 см<sup>3</sup> наливают по 15—20 см<sup>3</sup> питательного агара, содержащего 1% глюкозы и 0,3% индикатора Андреса. Флаконы стерилизуются (при давлении 0,5 атм или дробно); одновременно стерилизуют такую же среду, но с лактозой, разлитую по 15—20 см<sup>3</sup> в пробирки. После стерилизации среда, находящаяся во флаконах, скашивается, застывает. Затем на противоположную стенку флакона стерильно вливают растопленную среду с лактозой, которая тоже скашивается. После застывания агара во флаконы наливают по 70 см<sup>3</sup> стерильного 30% желчного бульона. Для проверки стерильности флаконы выдерживают сутки в термостате, затем наклонением флакона орошают агаровые поверхности желчным бульоном и выдерживают в термостате еще сутки. Флаконы, оставшиеся стерильными, пригодны для посева.

10 см<sup>3</sup> крови больного засевают в желчный бульон и флакон ставят в термостат на 12—18 часов. После этого поверхности агаровых сред орошают желчно-кровяной жидкостью путем наклонения флакона в одну и другую сторону и флакон снова ставят в термостат. Уже через 12 часов можно обнаружить рост колоний на агаровых пластинках. При этом агар с глюкозой краснеет, если выросли тифозные микробы; если же обнаруживаются паратифозные микробы, то, кроме покраснения среды с глюкозой, наблюдается скопление пузырьков (а иногда и пены) газа между агаровой пластинкой и стенкой флакона. Агар с лактозой не из-



меняется. Колонии, выросшие на агаровых пластинках, служат для дальнейшего исследования.

Желчь не только потому пригодна для культивирования тифозных бактерий из крови, что она способствует росту этих бактерий, но также благодаря задерживающему действию на бактериофаг; кроме того, желчь препятствует свертыванию крови.

При отсутствии желчи можно засеивать кровь по способу Клодницкого в 8—10 объемов дистиллированной воды: 10 см<sup>3</sup> крови в 80—100 см<sup>3</sup> воды.

Клодницкий (1934) рекомендует также посев крови от тифозного больного делать на стерильную водопроводную или дистиллированную воду с 0,1% агара. На такой среде тифозные бактерии вырастают не хуже, а, может быть, лучше, чем на средах с желчью. По Самсонову, 5—10 см<sup>3</sup> крови засеивают на 200—250 см<sup>3</sup> стерилизованной водопроводной воды.

Иногда лаборатория получает для исследования пробирку с уже свернувшейся кровью. Сыворотка используется для реакции Видаля, а сгусток крови может быть посеян на желчь. По данным лаборатории московской больницы Медсантруд, удается в 10—15% случаев высевать брюшнотифозные палочки из сгустков крови, остающихся при исследовании на реакцию Видаля. Перед посевом рекомендуется размельчать сгусток.

Кровь, засеянная в желчь или дистиллированную воду, помещается в термостат при 37°. Пересев из желчи или другой среды, в которую засеяна кровь, необходимо делать через сутки. Если результат получится отрицательный, то посев крови снова следует поставить в термостат и через двое суток сделать второй высев на плотную питательную среду. При отрицательном результате третий высев можно делать на 5—7-й или 10-й день.

Высев производят на одну из дифференциальных сред (Эндо, Левина, Либермана и др.). С чашек выделяют чистые культуры, которые идентифицируются обычным способом, подробно описанным ниже.

При необходимости ускорить ответ можно применить следующие методы:

1. Со среды Рапопорт можно в конце первых суток роста сделать нативный препарат для определения подвижности и препарат, окрашенный по Граму. При наличии чистой культуры грамотрицательных подвижных палочек можно получить ориентировочные данные о тифозной или паратифозной природе их, учитывая изменение цвета среды и образование пузырька газа в поплавке.

2. Высев из среды Рапопорт или другой какой-либо среды можно производить не на чашки, а в пробирки с косым агаром, если имеется рост чистой культуры, в чем убеждаются, приготовив и окрасив мазки. Тогда в конце вторых суток можно уже сделать пересев на пестрый ряд, а из остатка роста приготовить эмульсию для ориентировочной и большой агглютинации.

3. Если на чашке (вторые сутки) имеется обильный рост чистой культуры, то можно, отсеив несколько колоний на косой агар, остальной материал смыть физиологическим раствором для ориентировочной и большой агглютинации.

Все эти методы, давая предварительные, ориентировочные ответы, не освобождают от классической идентификации выделенных штаммов.

б) Исследование испражнений. Пробы испражнений от тяжело больных можно брать из подкладного судна. Необходимо обращать внимание на то, чтобы в судне не оставалось следов испражнений или мочи от



другого больного. Судно следует продезинфицировать известковым молоком (но не лизолом или карболовой кислотой) и затем тщательно сполоснуть горячей водой. От больных, переносящих заболевание на ногах, испражнения удобно собирать в уборной на стерильные эмалированные тарелки. При массовых эпидемиологических обследованиях на бациллоносительство для сбора испражнений можно пользоваться стерильной толстой оберточной бумагой, нарезанной кусками  $25 \times 25$  см. Пробы испражнений набираются деревянным шпателем в широкие короткие пробирки.

За несколько часов до взятия пробы на бациллоносительство необходимо дать лицам, подлежащим обследованию, по 30 г глауберовой соли. Для исследования надлежит брать материал из жидкой части испражнений.

Посев испражнений производят параллельно двумя способами: прямым и на среды обогащения.

Для непосредственного прямого посева небольшое количество испражнений размещивают в пептонной воде или физиологическом растворе и оставляют на полчаса на столе до оседания крупных частиц, после чего с поверхности жидкости берут одну каплю материала и засевают на чашки со специальной питательной средой — дифференциальной и элективной.

Выбор любой из сред делается по усмотрению лабораторного работника. В этом случае особую важность имеет опыт, который дает умение различать на применяемой среде особенности роста кишечных бактерий. Наиболее употребительные из специальных элективных сред для тифозно-паратифозной группы следующие:

1. Агар Эндо. На этой среде колонии тифозных, паратифозных и дизентерийных бактерий бесцветны; кишечная палочка дает колонии темнокрасного цвета с металлическим блеском.

Несмотря на достоинства (хороший рост тифозных и паратифозных бактерий, подавление размножения грамположительных микробов и пр.), среде Эндо свойственны и значительные недостатки. К последним в первую очередь относится диффузия кислых продуктов обмена бактерий, вызывающая диффузное покраснение среды, и благоприятные условия для роста вульгарного протей.

2. Агар с конгоротом, предложенный Либерманом, представляет собой одну из самых простых и доступных цветных сред. Этот агар не содержит никаких бактерицидных веществ. На этой среде колонии тифозных, паратифозных и дизентерийных бактерий красного цвета, колонии кишечной палочки черного цвета с синеватым оттенком.

Необходимо отметить, что хорошая дифференциация колоний на этой среде получается, если за основу взят мясо-пептонный агар. На агаре Хоттингера иногда колонии *B. coli* приобретают черный цвет лишь на вторые сутки.

3. Агар с эозином и метиленовой синькой в модификации Левина. На этой среде *B. coli* растет в виде непрозрачных темносиних колоний, а колонии бактерий тифозно-паратифозной группы прозрачны и бесцветны или слегка розоваты.

Среда обладает большими преимуществами: 1) отсутствует диффузная окраска, поэтому удается выделять колонии с густо засеянной чашки; 2) среда на свету не изменяется; 3) вульгарный протей на этой среде ограничен в своем распространении и легко различается, благодаря оранжевой окраске колоний; поэтому даже при наличии роста протей на чашке удается различить и выделить колонии патогенных микробов.

4. Висмут-сульфитный агар. Тифозные бактерии редуцируют в присутствии виноградного сахара висмут-сульфит в черный сульфид. В то же время висмут угнетает в присутствии сернистого натрия рост кишечной палочки и других кишечных бактерий.



Тифозные и паратифозные бактерии на этой среде растут в виде черных колоний. Паратифозные колонии чернеют на 2 дня позже тифозных. Рост кишечной палочки почти совсем подавляется.

Посев на среды обогащения, т. е. те среды, на которых искомым микроб размножается лучше и быстрее, чем сопутствующие, параллельно с прямым высевом обязателен при обследовании здоровых людей на бациллоносительство, так как у них часто выделяется весьма небольшое количество микробов. При посеве на среду обогащения кусочек испражнений эмульгируется в 10 см<sup>3</sup> такой среды.

Для посева на чашки и в среду обогащения берется каждый раз новая порция кала, и таким образом увеличивается количество исходного материала.

Предложено большое количество методов обогащения. Наиболее употребительными из них являются: 1) среда Мюллера, 2) среда Шустовой (1931), представляющая рациональное упрощение среды Мюллера, 3) комбинированная среда Кауфмана.

Посев на средах обогащения выдерживается в термостате при температуре 37° около суток. Имеются указания на то, что наилучшие результаты получаются после инкубации в течение 5—6 часов.

Как и при прямом посеве, высеив со сред обогащения производится на одну из дифференциальных или элективных сред.

в) Исследование мочи. Так как при тифозно-паратифозных заболеваниях выделение бактерий с мочой может быть кратковременным и периодическим, необходимо делать исследования мочи повторно, с промежутками приблизительно в 5—7 дней. Посев мочи можно делать непосредственно на среды, применяемые для выделения тифозных бактерий из кала. В моче тифозные бактерии по большей части находятся в чистой культуре и притом в большом количестве, поэтому их выделение удастся без труда.

При исследовании на бациллоносительство рекомендуется производить одновременный высеив мочи и испражнений. При этом можно использовать мочу как жидкость для эмульгирования испражнений того же лица.

г) Исследование желчи (дуоденального содержимого). Зондирование тонким зондом, как правило, производится в лечебном учреждении. В лабораторию доставляют пробирки с двумя или тремя порциями (А и В или А, В, С) дуоденального содержимого и желчи. Каждую из порций можно посеять отдельно, но можно предварительно смешать их и посеять смесь. Материал в количестве 0,5 см<sup>3</sup> наносят на дифференциальную среду в чашке Петри и размазывают шпателем. Еще лучше для накопления тифозных или паратифозных микробов посеять 1—2 см<sup>3</sup> желчи в среду обогащения или в простой бульон.

д) Исследование розеол. Участок кожи с несколькими хорошо выраженными розеолами протирают спиртом, а затем сухой стерильной марлей или ватой. Острым скальпелем делают несколько поверхностных царапин на розеолах так, чтобы на них выступили капли лимфы. К капле лимфы стерильной пипеткой быстро прибавляют каплю желчного бульона, смешивают обе капли и втягивают их в пастеровскую пипетку. Для пересылки конец пипетки запаивают на пламени горелки. В лаборатории запаянный конец обламывают и смесь лимфы с бульоном выдувают во флакон с желчным бульоном.

Посевы гноя, экссудата, спинномозговой жидкости, а также патологического материала, добытого из трупа, производят тем же порядком, какой описан для желчи (дуоденального содержимого).

е) Выделение чистой культуры и ее идентификация. Для выделения чистой культуры подозрительные колонии, прозрачные,



бесцветные или голубоватые, с дифференциальной среды на чашках захватываются прокаленной и остуженной петлей и рассеваются на косой простой агар и углеводные среды с лактозой и глюкозой (короткий пестрый ряд). Вместо трех пробирок (простой агар, среда с лактозой, среда с глюкозой) можно пользоваться средой Ресселя (стр. 656). На нее сеют сначала штрихом по косой поверхности, а затем уколом в столбик.

Отвивают 3—5 колоний, так как чем больше их выделено, тем больше шансов обнаружить патогенные микробы. Посевы помещают в термостат при 37° до следующего дня.

На следующий день просматривают посевы и отбирают для дальнейшего исследования те из них, в которых не изменилась среда с лактозой. С косого агара в этих культурах делают мазок, который окрашивают по Граму, и раздавленную или висячую каплю, которую рассматривают для определения подвижности<sup>1</sup>. Можно приготовить раздавленную каплю, посмотреть ее, а затем снять покровное стекло, высушить, зафиксировать материал и окрасить его по Граму.

Те культуры, которые состоят из грамотрицательных подвижных палочек, не расщепляющих лактозу и разлагающих глюкозу без образования газа, подозрительны как брюшнотифозные. Такие же культуры, но образующие газ, могут быть паратифозными.

Соответственно этим признакам можно для ориентировочного ответа попробовать поставить реакцию агглютинации на предметном стекле. Для этого на предметное стекло наносят агглютинирующую сыворотку в разведении 1:50 и рядом каплю физиологического раствора и размещивают в последней немного культуры, снятой петлей с косого агара. Затем обе капли соединяют. При соответствии сыворотки и культуры в капле появляются хлопья, которые при рассмотрении под микроскопом (сухая система 6 или 7, окуляр 4) оказываются состоящими из склеившихся микробов (рис. 359).

Такое ориентировочное исследование не освобождает от дальнейшего подробного изучения культур, которое складывается из следующих этапов. Культура пересеивается на длинный пестрый ряд, в который входят среды с маннитом, мальтозой, сахарозой (если имеется, то и с ксилозой), молоко с лакмусом или лакмусовая сыворотка<sup>2</sup> и простой бульон для исследования на сероводород и индол. Все посевы помещают в термостат вместе с пробирками с лактозой и глюкозой от предыдущего дня и свежим пересевом на косой агар, чтобы не потерять штамм.

На следующий день посевы вынимают, регистрируют изменения в средах с углеводами, наличие или отсутствие образования газа (рис. 360) сероводорода и индола и ставят развернутую реакцию агглютинации со взвесью микробов с косого агара.

<sup>1</sup> Определение подвижности можно перенести на 3-й день, когда учитываются данные длинного пестрого ряда.

<sup>2</sup> Действие выделенных микробов на молоко определяется по изменению цвета молока: при подщелачивании — розовым до красного, при подщелачивании — сине-фиолетовым до синего. Чтобы определить свертывание молока, рекомендуется его прокипятить.

Лакмусовая сыворотка изменяет цвет, подобно молоку.



Рис. 360. Пробирки с поплавками, справа — газообразование, слева — без изменений.



Для определения сероводорода при посеве на бульон закладывают под пробку полоску фильтровальной бумаги, пропитанной раствором уксуснокислого свинца. Такие бумажки готовятся заранее. Смачивают лист фильтровальной бумаги в следующем растворе: дистиллированной воды — 100 см<sup>3</sup>, уксуснокислого свинца — 20 г, двууглекислой соды — 1 г.

Бумагу высушивают, нарезают полосками, закрепляют при посеве под пробкой так, чтобы бумажка не касалась бульона. При образовании сероводорода он улетучивается и бумажка чернеет. Можно тем же раствором смочить внутреннюю часть ватной пробки перед тем, как помещать посев в термостат.

Индол можно определить тоже при помощи бумажки. Фильтровальную бумагу намачивают в горячем насыщенном (12%) растворе шавелевой кислоты. Высушивают, нарезают полосками, укрепляют под пробкой в пробирке с посевом на простой бульон, как для определения сероводорода. В присутствии индола бумажка розовеет. Однако эта проба не очень чувствительна и не выявляет слабого образования индола. Более чувствительна реакция Эрлиха: к бульонной культуре (двух- или трехсуточной) приливают 2—3 см<sup>3</sup> эфира. Пробирку встряхивают или катают между ладонями для извлечения индола, после чего дают эфиру отстояться. К эфирной вытяжке (можно ее слить в отдельную пробирку или просто оставить в виде слоя над бульоном) приливают несколько капель реактива следующего состава: парадиметиламидобензальдегида — 1 г, крепкой соляной кислоты — 20 см<sup>3</sup>, спирта 96° — 95 см<sup>3</sup>.

Можно ставить реакцию без эфирной вытяжки, прибавляя прямо в бульон 5—10 капель реактива в следующей пропорции: 5 г парадиметиламидобензальдегида растворяют в 100 см<sup>3</sup> смеси: спирта 96° — 50 см<sup>3</sup> и концентрированной соляной кислоты — 50 см<sup>3</sup>.

В присутствии индола эфирная вытяжка или бульон окрашивается в розовый или красный цвет. Следует помнить, что для образования индола требуется присутствие в бульоне триптофана. Последний всегда имеется в бульоне, приготовленном на переваре Хоттингера.

Сопоставление всех признаков, полученных в результате изучения морфологических и культуральных свойств (табл. 57), позволяет выбрать сыворотку для окончательной идентификации культуры серологическим путем в реакции агглютинации.

ж) Реакция агглютинации с выделенными культурами. Необходимыми сыворотками снабжают бактериологические институты. Сыворотки должны содержать и соматические (О), и жгутиковые (Н) агглютинины (см. стр. 685). На этикетке должен быть указан предельный титр и время изготовления агглютинирующей сыворотки. Сыворотки, изготовленные больше чем за год до употребления, могут быть использованы только после проверки титра.

Для постановки реакции нужно приготовить взвесь бактерий и разведения сыворотки. Культуру на скошенном агаре смывают 2—3 см<sup>3</sup> физиологического раствора, и смесь переливают в стерильную пробирку. Можно убить микробы прибавлением к взвеси 0,25—0,3% формалина или осторожным подогреванием на водяной бане при 60° в течение 30 минут.

Из агглютинирующей сыворотки готовится исходное разведение 1:50 — 0,1 см<sup>3</sup> сыворотки + 4,9 см<sup>3</sup> физиологического раствора. Это разведение сыворотки готовится стерильно, в стерильной пробирке и хранится в холодильнике. Оно пригодно для ориентировочных реакций на стекле и для постановки развернутой реакции агглютинации в течение 10—14 дней. При массовой работе полезно иметь готовый набор исходных разведений из тифозной и паратифозных сывороток.



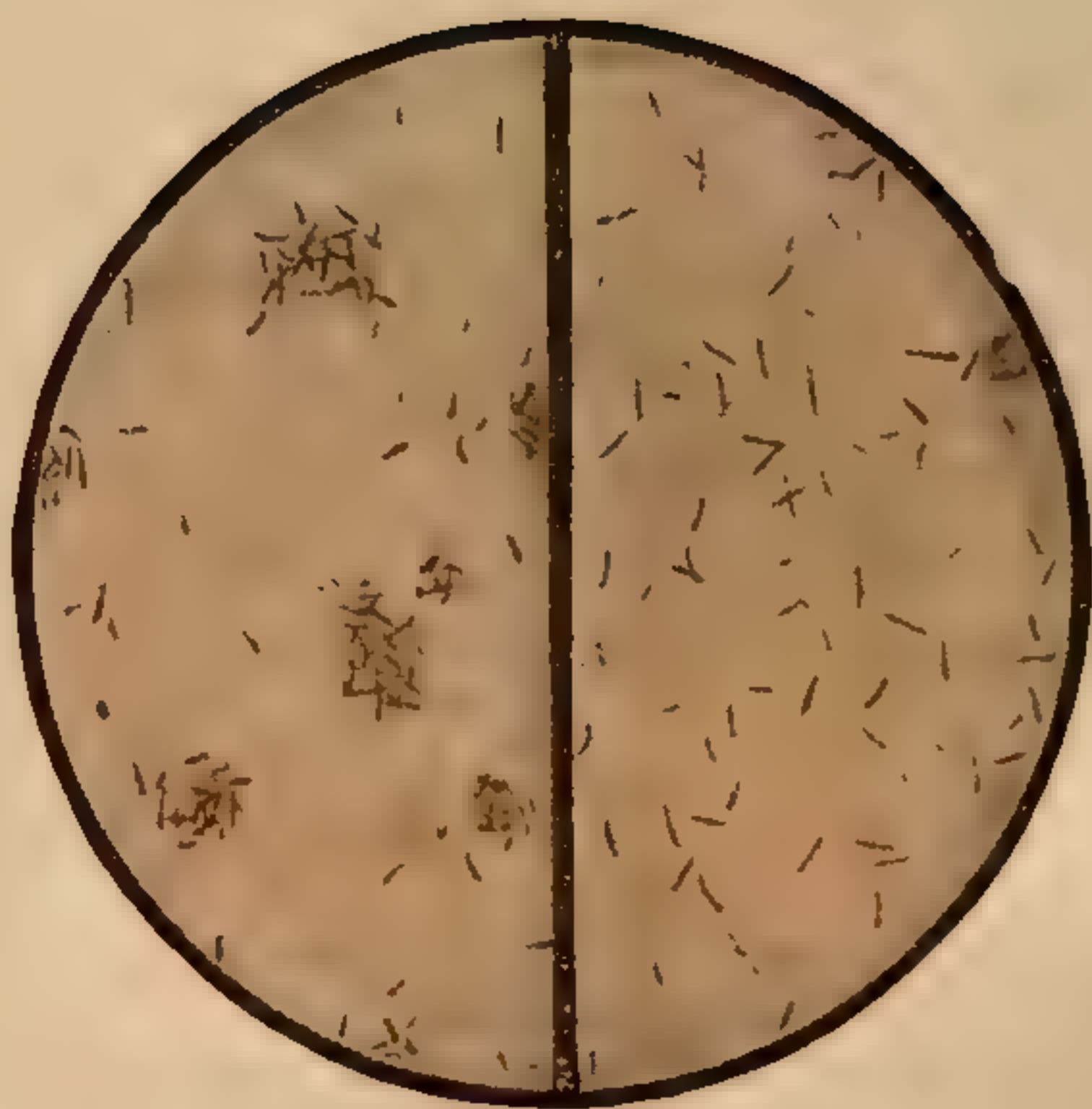


Рис. 359. Реакция агглютинации микро-  
скопически. Слева ясное скучивание,  
справа его нет.







Дальнейшие разведения сыворотки проводятся объемным или капельным способом по следующим схемам (табл. 58).

Таблица 58

Объемный способ

№ пробирки	Агглютинирующая сыворотка в см <sup>3</sup>	Физиологический раствор в см <sup>3</sup>	Смыв культуры	Разведение сыворотки	Примечание
1	0,1 из разведения 1:50	0,9	1 капля	1:500	
2	0,5 из разведения 1:500	0,5	1 »	1:1 000	
3	0,5 из разведения 1:1 000	0,5	1 »	1:2 000	
4	0,5 из разведения 1:2 000	0,5	1 »	1:4 000	
5	0,5 из разведения 1:4 000	0,5	1 »	1:8 000	Начиная с этой пробирки, дальнейшие разведения ставятся в зависимости от титра сыворотки
6	0,6 из разведения 1:8 000	0,3	1 »	1:12 000	
7	0,5 из разведения 1:12 000	0,5	1 »	1:24 000	
8	—	0,5	1 »	—	Контроль культуры
9	0,5 из разведения 1:50	—	—	—	Контроль сыворотки

Для постановки реакции капельным способом тоже нужно иметь исходное разведение 1:50.

Реакцию прочитывают после 2 часов пребывания пробирок в термостате и 18 часов — при комнатной температуре. Читать реакцию следует простым глазом и через агглютиноскоп или лупу. Результаты выражаются в выпадении крупных хлопьев или зернистости, которое при осаждении сопровождается большей или меньшей степенью просветления жидкости (рис. 361). Хлопчатый характер агглютината соответствует жгутиковым антигенам и антителам, мелкозернистый — соматическим. Хорошо агглютинирующимися культурами считаются такие, которые агглютинируются до разведения сыворотки, равного таковым, которые агглютинируются до разведения сыворотки, равного не меньше чем  $\frac{1}{3}$  ее титра. Культуры, дающие реакцию агглютинации

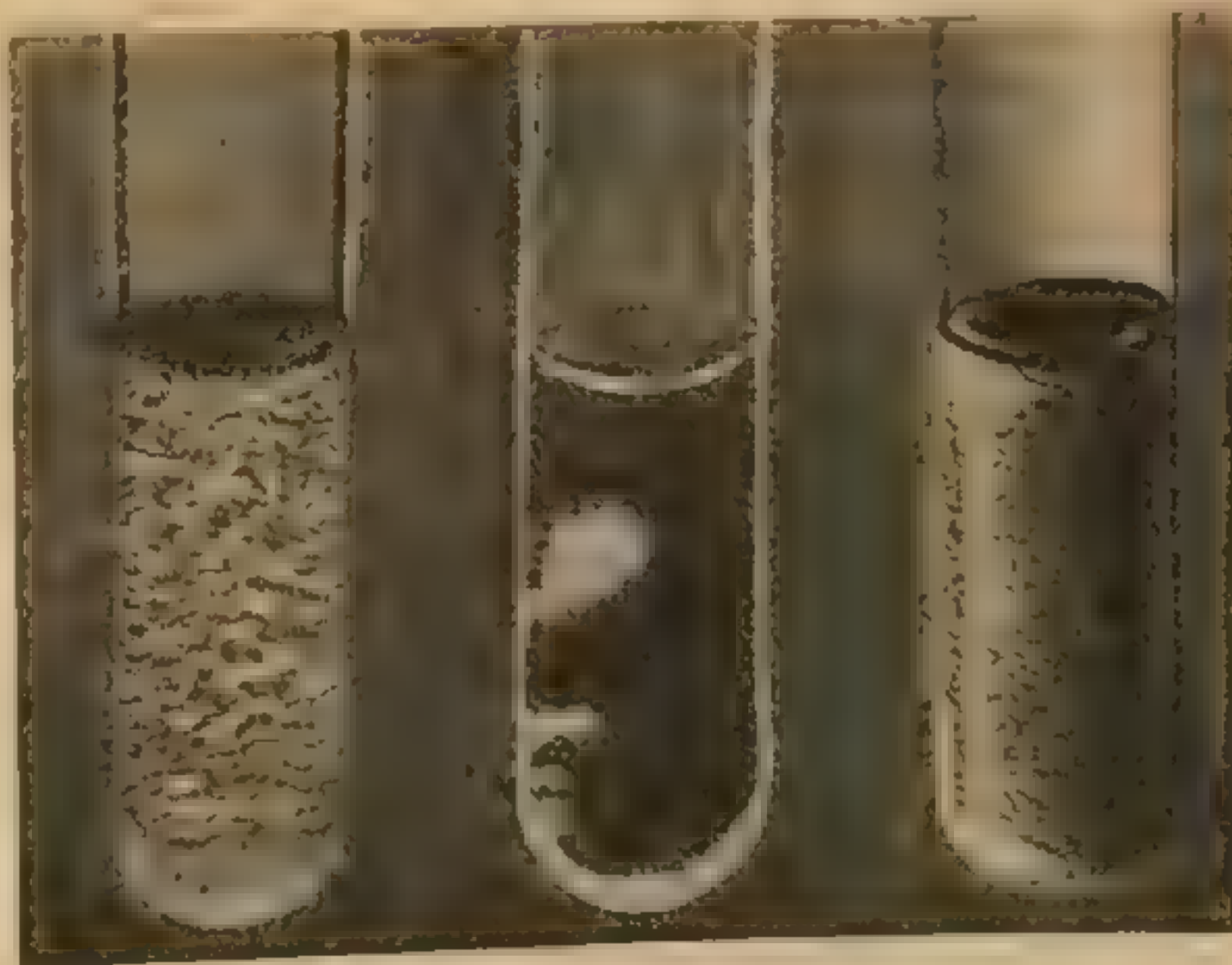


Рис. 361. Различный характер агглютината.



только в разведениях сыворотки ниже  $\frac{1}{3}$  ее титра, обозначаются как слабо агглютинирующиеся. Детали техники — см. в главе «Серологические исследования».

На 4-й день исследования производится оценка полученных результатов.

1. В случае выделения культур, которые по морфологическим, биологическим и серологическим свойствам вполне соответствуют одному из

Таблица 59

Капельный способ

№ пробирки	Агглютинирующая сыворотка в каплях	Физиологический раствор в каплях	Смыв культуры	Разведение сыворотки	Примечание
1	2 из разведения 1:50	18	1 капля	1:500	
2	2 из разведения 1:50	38	1 »	1:1 000	
3	10 из разведения 1:1 000	10	1 »	1:2 000	
4	5 из разведения 1:1 000	15	1 »	1:4 000	
5	5 из разведения 1:1 000	25	1 »	1:6 000	
6	3 из разведения 1:1 000	21	1 »	1:8 000	
7	2 из разведения 1:1 000	18	1 »	1:10 000	
8	10 из разведения 1:6 000	10	1 »	1:12 000	
9	—	20	1 »	—	Контроль культуры
10	20 из разведения 1:50	—	—	—	Контроль сыворотки

Или:

Таблица 60

№ пробирки	Агглютинирующая сыворотка в каплях	Физиологический раствор в каплях	Смыв культуры	Разведение сыворотки	Примечание
1	1 капля неразведенной	99	1 капля	1:100	
2	5 из первой	10	1 »	1:300	
3	4 » »	16	1 »	1:500	
4	2 » »	18	1 »	1:1 000	
5	2 из второй	18	1 »	1:3 000	
6	1 » »	19	1 »	1:6 000	
7	1 » »	29	1 »	1:9 000	
8	1 » »	39	1 »	1:12 000	
9	—	20	1 »	—	Контроль
10	20 капель	—	—	—	Контроль



известных патогенных видов тифозно-паратифозной группы микробов, дается положительный ответ и указывается вид обнаруженных микробов.

2. При выделении культур, у которых морфологические и биологические свойства соответствуют одному из известных видов патогенных микробов, но которые не агглютинируются одноименной сывороткой, следует в течение 5—7 дней ежедневно пересевать эти культуры на свежий агар и снова проверить их в реакции агглютинации. Свежевыделенные штаммы, особенно брюшнотифозной палочки, часто агглютинируются слабо или совсем не агглютинируются. После пересевов эта способность у них нередко восстанавливается.

Если же потеря агглютинабельности стойкая, то дается положительный ответ, но с указанием, что выделенная культура является слабо агглютинирующей или неагглютинирующей.

3. В случае выделения культур, по одному или двум признакам отклоняющихся от общепринятой схемы, но хорошо агглютинирующихся определенной сывороткой, дается утвердительный ответ.

## ОБНАРУЖЕНИЕ ДИЗЕНТЕРИЙНЫХ МИКРОБОВ

1) Общие указания к исследованию. При исследовании какого-либо материала с целью обнаружения дизентерийных микробов следует иметь в виду множественность микробов, вызывающих дизентерийное заболевание. В настоящее время общепризнано, что дизентерия вызывается палочками рода *Shigella*, отдельные виды которого различают по культуральным и серологическим свойствам. Бесспорными возбудителями дизентерии признаются: 1) палочка Шига, не сбраживающая маннита, продуцирующая экзотоксин; 2) палочки группы Гисс-Флекснера, объединяющие 7—9 серологических типов, ферментирующие маннит и не продуцирующие экзотоксина; разновидность микроба Флекснера — палочка Ньюкестл; 3) палочка Зонне, ферментирующая маннит, расщепляющаяся при посеве на два вида колоний — выпуклые и плоские (гладкие и шероховатые); 4) палочка Штуцер-Шмитц, не разлагающая маннит.

Для всех дизентерийных микробов характерно, что они неподвижны, не красятся по Граму, не ферментируют лактозу, за исключением палочки Зонне, не образуют газа на средах с углеводами, за исключением палочки Ньюкестл.

В табл. 61 показаны основные признаки наиболее распространенных дизентерийных микробов.

Бактериологическое исследование на дизентерию может быть произведено со следующими целями: 1) диагностика заболевания; 2) выписной контроль по отношению к реконвалесцентам с целью выявить среди них бацилловыделителей; 3) обследование лиц (особенно в коллективах), подозрительных на хроническое заболевание дизентерией; 4) обследование лиц, подозрительных как источник инфекции при вспышках; 5) обследование работников пищевой промышленности, продовольственной торговой сети, пищевых блоков лечебных и детских учреждений и т. д.

2) Материал для исследования, его сбор и консервирование. В соответствии с локализацией дизентерийных микробов преимущественно в толстом кишечнике основным материалом для исследования на дизентерию служат выделения кишечника или его содержимое в случае извлечения трупного материала. При сборе испражнений следует учитывать: 1) что микробы находятся главным образом в слизи и гное, поэтому надо отбирать именно такие кусочки, которые содержат слизь и гной (отнюдь не кровь); 2) что первые порции кала представляют собой пробку



Схема культуральных, ферментативных и

Вид	Полуживость	Окраска по Граму	Лактоза	Глюкоза	Маннит	Мальтоза	Сахароза	Рамноза	Ксилоза	Сорбит
<i>Shigella dysenteriae</i> (Шига)	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
<i>Shigella ambigua</i> (Штуцер-Шмитц)	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
<i>Shigella paradysenteriae</i> (Флекснер)	—	—	—	+	+	±	+	—	—	±
<i>Shigella sonnei</i> (Зонне)	—	—	+ на 2 сутки	+	+	±	+	+	±	—
<i>Shigella paradysenteriae</i> var. <i>Newcastle</i> (Ньюкестль)	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+
<i>Shigella alcalescens</i> (Бойд)	—	—	—	+	+	+	+	+	+	медленно
<i>Shigella dispar</i> (Бойд)	—	—	+	+	+	+	+	+	±	·
Новый тип (Новгородская)	—	—	—	+	+	—	—	—	±	±

Условные обозначения: + ферментирует с образованием кислоты;

из нижней части прямой кишки, где микробы могли погибнуть; для посева следует собирать последующие порции кала, происходящие из верхней части прямой и из сигмовидной кишки. Однако для исследования на дизентерию не следует собирать последние жидкие порции испражнений, которые, особенно после дачи слабительного, являются содержимым нижнего отрезка тонких кишок. Эти порции представляют интерес только при подозрении на язвенный процесс в верхних участках толстого или нижней части тонкого кишечника.

Сбор испражнений можно производить, не дожидаясь дефекации, ватным тампоном или трубкой Цихана. Последняя представляет собой стеклянную трубку диаметром от 5 мм (для детей) до 15 мм (для взрослых), длиной около 150 мм, у которой нижний конец наглухо запаян (как в пробирке). На расстоянии 15—20 мм от запаянного конца в трубке имеются два опасных отверстия, расположенных на противоположных стенках (одно несколько ниже другого). Открытый конец трубки закрывают ваткой; трубку через ватную пробку опускают в пробирку и в таком виде стерилизуют. Такая трубка вводится в прямую кишку как

Таблица 61

сериологических свойств рода *Shigella*

Дульцит	Арабиноза	Серогодород	Индол	Каталаза	Лакмусовая сыворотка	Агглютинация с сыворотками						
						Shiga	Ambigua	Flexner	Newcastle	Sonne	Alcalescens	Dispar
—	—	—	—	—	к	+	—	—	—	—	—	—
+	медленно	—	+	±	к	—	+	—	—	—	—	—
—	медленно	—	±	+	к	—	—	+	(+)	—	(+)	—
+	+	—	—	+	к	—	—	—	—	+	—	—
±	+	—	—	+	к	—	—	(+)	+	—	—	—
медленно	медленно	—	+	·	с	—	—	(+)	—	—	+	·
+	·	—	+	·	к	—	—	—	—	—	—	+
±	·	—	+	·	к	—	—	—	—	—	—	·
—	+	—	—	±	к	—	(+)	—	—	—	·	·

± ферментирует непостоянно; к — краснеет; с — синеет; · — неизвестно.

можно дальше. Она достаточно широка, чтобы касаться стенок кишки, и при обратном вытягивании собирает в тупом конце материал из верхних отделов прямой кишки.

Удобно также пользоваться простыми открытыми стеклянными трубками с опасными краями. У таких трубок один конец закрыт ваткой, а второй через ватную пробку опущен в пробирку. Все это стерилизуют. Такой трубкой очень удобно набирать материал из горшка, с пеленки и у маленьких детей из прямой кишки.

Сбор материала через ректоскоп непосредственно с воспаленных участков слизистой или язв рекомендуется многими авторами. В этом случае пользуются стерильным ватным тампоном на проволоке соответствующей длины.

Посевы крови и мочи обычно не производятся, ввиду редкости нахождения микробов в этих объектах.

Бактериологическое исследование органов трупа следует производить возможно быстрее после смерти. Исследуют кишечник, мезентериальные железы и паранхиматозные органы. Обычно прежде забирают кусочки печени, селезенки и желез, а затем вскрывают кишечник.



Схема культуральных, ферментативных и

Вид	Полвижность	Окраска по Граму	Лактоза	Глюкоза	Маннит	Мальтоза	Сахароза	Рамноза	Ксилоза	Сорбит
<i>Shigella dysenteriae</i> (Шига)	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
<i>Shigella ambigua</i> (Штуцер-Шмитц)	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
<i>Shigella paradysenteriae</i> (Флекснер)	—	—	—	+	+	±	±	—	—	±
<i>Shigella sonnei</i> (Зонне)	—	—	+ на 2 сутки	+	+	±	+	+	±	—
<i>Shigella paradysenteriae</i> var. <i>Newcastle</i> (Ньюкестль)	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+
<i>Shigella alcalescens</i> (Бойд)	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—
<i>Shigella dispar</i> (Бойд)	—	—	+	+	+	+	—	+	±	—
Новый тип (Новгородская)	—	—	—	+	+	—	—	—	±	±

Условные обозначения: + ферментирует с образованием кислоты;

из нижней части прямой кишки, где микробы могли погибнуть; для посева следует собирать последующие порции кала, происходящие из верхней части прямой и из сигмовидной кишки. Однако для исследования на дизентерию не следует собирать последние жидкие порции испражнений, которые, особенно после дачи слабительного, являются содержимым нижнего отрезка тонких кишок. Эти порции представляют интерес только при подозрении на язвенный процесс в верхних участках толстого или нижней части тонкого кишечника.

Сбор испражнений можно производить, не дожидаясь дефекации, ватным тампоном или трубкой Цимана. Последняя представляет собой стеклянную трубку диаметром от 5 мм (для детей) до 15 мм (для взрослых), длиной около 150 мм, у которой нижний конец наглухо запаян (как в пробирке). На расстоянии 15—20 мм от запаянного конца в трубке имеются два опасных отверстия, расположенных на противоположных стенках (одно несколько ниже другого). Открытый конец трубки закрывают ваткой; трубку через ватную пробку опускают в пробирку и в таком виде стерилизуют. Такая трубка вводится в прямую кишку как



сериологических свойств рода *Shigella*

Дульцит	Арабиноза	Серогидролит	Индола	Катализа	Лакмусовая сыворотка	Агглютинация с сыворотками								исходный тип
						Shiga	Ambigua	Flexner	Newcastle	Sonne	Alcalescens	Dispar		
—	—	—	—	—	к	+	—	—	—	—	—	—	—	
+	медленно	—	+	±	к	—	+	—	—	—	—	—	—	
—	медленно	—	±	+	к	—	—	+	(+)	—	(+)	—	—	
+	+	—	—	+	к	—	—	—	—	+	—	—	—	
± медленно	медленно	—	—	+	к	—	—	(+)	+	—	—	—	—	
+	•	—	+	•	с	—	—	(+)	—	—	+	—	•	
±	•	—	+	•	к	—	—	—	—	—	—	+	•	
—	+	—	—	±	к	—	(+)	—	—	—	•	•	+	

± ферментирует непостоянно; к — краснеет; с — синеет; • — неизвестно.

можно дальше. Она достаточно широка, чтобы касаться стенок кишки, и при обратном вытягивании собирает в тупом конце материал из верхних отделов прямой кишки.

Удобно также пользоваться простыми открытыми стеклянными трубками с опаянными краями. У таких трубок один конец закрыт ваткой, а второй через ватную пробку опущен в пробирку. Все это стерилизуют. Такой трубкой очень удобно набирать материал из горшка, с пеленки и у маленьких детей из прямой кишки.

Сбор материала через ректоскоп непосредственно с воспаленных участков слизистой или язв рекомендуется многими авторами. В этом случае пользуются стерильным ватным тампоном на проволоке соответствующей длины.

Посевы крови и мочи обычно не производятся, ввиду редкости нахождения микробов в этих объектах.

Бактериологическое исследование органов трупа следует производить возможно быстрее после смерти. Исследуют кишечник, мезентериальные железы и паренхиматозные органы. Обычно прежде забирают кусочки печени, селезенки и желез, а затем вскрывают кишечник.



Материал для посева доставляют в стерильной стеклянной посуде — баночках, широких пробирках. Трубки Цимана, простые трубочки и ватные тампоны можно помещать в пробирки, наполненные на  $\frac{1}{3}$  консервирующим раствором (см. ниже). При этом пропускают трубку или тампон через ватную пробку пробирки, а верхний конец трубки закрывают ваткой.

Консервирование испражнений от дизентерийных больных имеет целью предотвратить быструю гибель возбудителей. В постоявших испражнениях возникают процессы брожения, обуславливающие кислую реакцию, при которой легко гибнут дизентерийные микробы, но выживают кишечные сапрофиты. Поэтому прямой посев испражнений может применяться только в том случае, если его производят очень быстро после сбора материала. При посеве фекалий в больничной палате (у постели больного) получается наибольшее количество положительных результатов. Если время между сбором материала и посевом его может превысить 1—2 часа, то следует воспользоваться консервирующими растворами.

Наиболее распространен в качестве консерванта 30% раствор глицерина нейтральной реакции в 0,6% растворе поваренной соли (см. главу «Питательные среды»). Для инактивации бактериофага, присутствующего в испражнениях, можно прибавлять в консервант формалин с таким расчетом, чтобы конечное разведение его было 1:10 000.

Кроме глицериновой смеси, удовлетворительные результаты дает буферный раствор фосфорнокислых солей с  $pH=8,0$ .

В американских походных лабораториях для консервирования испражнений при посеве на дизентерию употребляется  $\frac{1}{33}$  N раствор едкого натра.

Консервант наливается в пробирки или другую посуду с таким расчетом, чтобы его было  $\frac{2}{3}$ , а исследуемого материала  $\frac{1}{3}$ .

Если материал не может быть сразу обработан, то его в консерванте следует хранить при 2—6° (в холодильнике). При этих условиях можно задержать посев на 12—24 часа.

**3) Посев исходного материала и ход бактериологического исследования.** Результаты исследования на дизентерию определяются правильным сбором материала и тщательным соблюдением методики обработки его в лаборатории.

Испражнения, полученные от больного, в больничном помещении или в лаборатории, не позднее чем через 2 часа исследуются прямым посевом без консерванта.

В первый день исследования выбирают прокаленной проволочной петлей комочки слизи из гнойных и слизисто-кровяных частей кала и тщательно промывают последовательно в 2 чашках Петри или 2—3 пробирках с физиологическим раствором. Затем проволочной же петлей переносят комочек на поверхность среды в чашке Петри и досуха растирают стерильным стеклянным шпателем, которым потом, не прожигая его, производят посев на второй и третьей чашке.

Принимая во внимание, что увеличение количества исходного материала повышает шансы положительного посева, в настоящее время многие лаборатории производят первичный посев иным способом, подобно тому как это делается при посеве воды.

Нанесенный на поверхность среды комочек слизи растирают на том же месте в виде небольшой площадки. Затем шпатель отрывают от поверхности агара, и, не прожигая его, размазывают остатки материала по остальной поверхности чашки. Для второй и, если возможно, третьей чашки берут каждый раз новый материал, т. е. новый комочек слизи.



При навике, когда берут не слишком большую каплю на чашку, получается рост отдельных колоний по всей поверхности, кроме первичной площадки.

Иногда по техническим условиям может оказаться затруднительным посев сразу на 2—3 чашки. Тогда можно в первый день посеять материал на одну чашку и оставить его в консерванте до следующего дня в леднике. На следующий день в этом случае высевают снова на 1—2 чашки все фекалии, давшие отрицательный результат при первом посеве.

При отсутствии комочков слизи и гноя испражнения эмульгируют в 5—10 см<sup>3</sup> физиологического раствора и взвесь засевают на чашку, как описано. Нужно иметь в виду, что длительное (больше 5—10 минут) отстаивание взвеси приводит к осаждению неподвижных дизентерийных микробов.

В испражнениях, доставленных в консервирующей жидкости, вылавливают кусочки слизи или гноя и без промывания сеют, согласно одной из описанных методик. Если слизи и гноя нет, то на поверхность среды наносят каплю эмульсии в консерванте.

Засеянные чашки помещают в термостат при 37° на 18—24 часа.

Для исследования на дизентерийных микробов могут быть использованы различные цветные дифференциальные среды. Из них наилучшими являются: 1) среда с метиленовой синькой и эозином в модификации Левина, 2) среда с конгоротом по Либерману, 3) бромкрезолпурпуровая среда.

Особое место занимают среды с прибавлением желчных солей или желчи. Они высоко элективны и создают тем самым весьма благоприятные условия для выделения дизентерийных микробов. Из сред этого ряда можно назвать сухую среду Ж (ЦИЭМ), агар Зейферта в модификации Чистовича<sup>1</sup>, дезоксихолатноцитратную среду Лифзона. Ввиду того что на этих средах не растут или плохо растут палочки Шига, рекомендуется сеять испражнения и другой материал на 2 чашки: одну — со средой Ж или Зейферта или дезоксихолатноцитратным агаром, а другую — со средой Левина и т. п.

Применение двух разных дифференциальных сред может быть рекомендовано вообще, так как каждая среда обладает какими-нибудь недостатками, а использование двух сред взаимно исключает эти недостатки.

На второй день чашки Петри вынимают из термостата и посевы рассматривают простым глазом и при помощи лупы (7× или 10×), чтобы не пропустить мелкие колонии. На большинстве цветных сред почти все патогенные микробы кишечной группы растут в виде прозрачных бесцветных колоний; некоторые *Salmonella* дают мутные колонии. Колонии палочки Крузе-Зонне плоского типа имеют характерную распластannую форму с неровными краями.

Следует помнить, что шероховатые колонии любого вида микробов представляют характерные особенности *R*-формы; они низкие, широкие, с изрезанными краями и неровной поверхностью, на просвет мутные, но сохраняют бесцветность.

Подозрительные колонии отвивают на короткий пестрый ряд: косой агар, среды Гисса с лактозой и глюкозой (с поплавком в пробирке). Если есть возможность и не вся колония истрачена на посев, можно для ориентировки попробовать агглютинацию на стекле со смесью сывороток Флекснера и Шига и смесью из сывороток *Salmonella*. Затем можно дать каплям высохнуть, зафиксировать мазки и окрасить их по Граму, чтобы

<sup>1</sup> Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, № 10, 1947.



убедиться, что колония состоит из грамотрицательных палочек. Вместо короткого пестрого ряда многие с успехом пользуются средой Ресселя.

С каждой чашки отвивают несколько колоний (5—10). В дальнейшем можно подвергнуть изучению не все выделенные подозрительные культуры, а 2—3 из них, сохранив остальные до заключения и используя их, если изучаемые придется отбросить.

Выделенные культуры ставят в термостат при 37° до следующего дня.

В 3-й день полученные данные позволяют ориентироваться в отношении результатов исследования. Резкое изменение сред с лактозой в результате сбраживания последней в течение первых суток позволяет отбросить культуру как непатогенную. Если среди выделенных культур данного исследования все сбраживают лактозу в течение первых суток, то исследование прекращается, как давшее отрицательный результат.

Штаммы, не изменившие среды с лактозой, изучаются морфологически: на мазках, окрашенных по Граму, и в висячей капле на подвижность. Если морфология культуры не соответствует грамотрицательным палочкам, то дается также отрицательный ответ.

Культуры, слегка сбраживающие лактозу, без газа в среде с глюкозой, должны быть подвергнуты дальнейшему изучению (микробы Крузе-Зонне). Ферментирование глюкозы с образованием газа при одновременном изменении среды с лактозой указывает на принадлежность культуры к группе *B. coli*, *Proteus vulgaris* и т. д.

Грамотрицательные подвижные палочки, не разлагающие лактозы, но ферментирующие глюкозу с образованием газа, подозрительны как паратифозные. Такие же палочки, подвижные, не сбраживающие лактозу и разлагающие глюкозу без газа, подозрительны как брюшнотифозные. Неподвижные грамотрицательные палочки, не ферментирующие лактозу, а разлагающие глюкозу без образования газа, подозрительны как дизентерийные.

Все штаммы, подозрительные как патогенные, могут быть еще проверены в ориентировочной агглютинации на стекле с соответствующими сыворотками в разведении 1:25—1:50. Однако отсутствие или наличие агглютинации не решает вопроса о принадлежности культуры к тому или иному виду. Свежевыделенные культуры в первых генерациях часто плохо агглютинируются. С другой стороны, культура, находящаяся в переходной или шероховатой фазе<sup>1</sup>, может легко и до высоких титров агглютинироваться гетерологичными сыворотками.

Культуры, отобранные как подозрительные, пересевают снова на косой агар. К короткому ряду сред Гисса добавляют пробирки с маннитом, мальтозой, сахарозой (если возможно, то с рамнозой и дульцитом); пробирки с лактозой и глюкозой остаются от предыдущего дня. Добавляется также посев на пробирку с простым хоттингеровским (триптофановым) бульоном. В эту пробирку под пробку можно поместить бумажку, смоченную раствором уксуснокислого свинца для определения образования сероводорода.

Все посеы помещают в термостат при 37° до следующего дня.

На 4-й день просматривают рост во всех пробирках. Соответственно с данными пестрого ряда (табл. 61) и ориентировочной агглютинации ставят реакцию агглютинации в разведениях гомологичной сыворотки (развернутая, линейная агглютинация). Разведения агглютинирующей сыворотки доводят до ее полного титра. Так как агглютинация

<sup>1</sup> Микробы при неблагоприятных условиях внешней среды могут изменять свои свойства. В частности, появление шероховатых колоний связано с атипичными отклонениями в биохимических свойствах и агглютинабельности.



дизентерийных микробов носит соматический характер, то пробирки ставят в термостат при 37° на 18—20 часов или в водяную баню при 55° на 4 часа (методику см. стр. 692).

На 5-й день дается окончательное заключение о природе выделенной культуры и выдается ответ. Просматривают пестрый ряд и отмечают замедленное ферментирование. Определяют индол по способу Эрлиха в двухсуточной бульонной культуре, отмечают образование сероводорода. Наконец, прочитывают реакцию агглютинации. Учет реакции с дизентерийными микробами необходимо производить при помощи агглютиноскопа или лупы, ввиду мелкозернистого характера агглютината.

Идентификация выделенных культур не представляет затруднений, если их биологические и серологические свойства совпадают с характеристикой одного из видов рода *Shigella* (табл. 61).

Наиболее частый случай отклонения от типичной характеристики представляют штаммы, потерявшие агглютинабельность. При соответствии морфологических и биохимических признаков какому-нибудь из видов *Shigella* эти штаммы не должны быть легко отброшены. Агглютинабельность иногда восстанавливается после нескольких (3—5) ежедневных пересевов на свежий (влажный) косой агар. Можно чередовать такие пересевы с посевом на бульон с глюкозой. Рекомендуются также рассеять неагглютинирующуюся культуру на чашку и выбрать из выросших колоний такие, которые дают на стекле агглютинацию с соответствующей сывороткой.

Если, несмотря на все попытки, культура не приобретает способности агглютинироваться, но во всем остальном типична, дается заключение об обнаружении неагглютинирующегося штамма.

Выделенная культура может хорошо агглютинироваться какой-нибудь из сывороток, но быть атипичной по другим свойствам. В таком случае прежде всего убеждаются в чистоте штамма. Для этого рассеивают жидкую взвесь изучаемой культуры на дифференциальной среде, что сразу позволяет убедиться в чистоте культуры или выделить снова типичную колонию. Вновь выделенный штамм проверяется по всей схеме. Если он вновь оказывается атипичным, то опираются на основные признаки: отрицательную окраску по Граму, отсутствие подвижности, образования газа и сероводорода, отсутствие ферментации лактозы и агглютинабельность.

### УСКОРЕННЫЕ МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ ПАТОГЕННЫХ МИКРОБОВ КИШЕЧНОЙ ГРУППЫ

Длительность классического бактериологического исследования (4—5 дней) не всегда соответствует потребностям клиники и эпидемиологии. Особенно это относится к заболеваниям, вызванным кишечными инфекциями, в частности, к дизентерии с ее коротким и бурным течением.

Отсюда понятно, что прилагалось и прилагается много усилий к тому, чтобы разработать методы, которые позволяли бы ускорить ответ лаборатории при бактериологическом исследовании на патогенных микробов кишечной группы.

В решении этой проблемы наметились два направления: 1) ускорение классического метода при помощи использования наиболее рациональных питательных сред, сокращения интервалов между пересевами и т. д.; 2) применение методов, основанных на наших знаниях антигенной структуры грамтрицательных микробов, на обнаружении специфического антигена или его фракции — полисахарида.



1) Ускорение классического метода исследования. В этой области предложено множество модификаций. Каждая из них в руках опытного работника дает хорошие результаты. Основные предложения, проверенные на большом материале, сводятся к следующим приемам: 1. Посев на среды, подогретые в термостате при 37°, дает рост уже через 4—6 часов. 2. Посев на среду Ресселя тоже дает рост через 6 часов. 3. Посев на среды с углеводами, разлитые в маленькие (агглютинационные) пробирки, позволяет учесть результаты через 6—7 часов. Прибавление к этим средам небольшого количества агар-агара (0,2%) дает возможность определить в этот же срок газообразование по разрывам и пузырькам в среде (метод Сирокко). 4. Реакция агглютинации по Ноблю (стр. 734), поставленная в небольших объемах капельным способом, дает серологическую характеристику изучаемой культуры в течение 30—40 минут.

Учитывая все модификации, можно составить следующую схему ускорения исследования по сравнению с классическим методом (табл. 62).

Таблица 62

День	По классическому методу	По ускоренному методу
1-й	Посев на чашки с дифференциальной средой	
2-й	Высев подозрительных колоний на агар, лактозу и глюкозу	1. Выделение подозрительных колоний на среду Ресселя и бульон. 2. Через 4—6 часов: со среды Ресселя микроскопическое исследование, ориентировочная и развернутая агглютинация; с бульона — пересев на пестрый ряд по Сирокко. Ориентировочный ответ
3-й	1. Бактериоскопия. 2. Определение подвижности. 3. Посев на пестрый ряд	Учет данных со среды Ресселя и пестрого ряда. Учет развернутой агглютинации. Окончательный ответ.
4-й	1. Предварительный учет пестрого ряда. 2. Постановка ориентировочной и развернутой реакции агглютинации. Ориентировочный ответ	Изучение атипичных культур
5-й	1. Окончательный учет пестрого ряда. 2. Просмотр большой агглютинации. Ответ	
Позднее 5-го	Изучение атипичных культур. 1. Пассажи неагглютинирующихся штаммов. 2. Рассевы и выделение колоний. 3. Поздний (до 10 дней) учет пестрого ряда	

Методы ускоренной диагностики при посеве крови приведены на стр. 685.

Отрицательные ответы при отсутствии подозрительных колоний или подозрительных культур после высева на короткий пестрый ряд даются при исследовании по классическому способу на 3-й день, а при ускоренной методике — на 2-й день.



2) Реакция кольцепреципитации с гаптенom. Специфичность соматического антигена грамотрицательных микробов зависит главным образом от строения его полисахаридного компонента, который называется гаптенom. Термостабильность этого комплекса позволяет освобождать его от бактериальных белков и других веществ и получать в экстракте или в сухом виде. Гаптены высоко специфичны для каждого вида бактерий, что позволяет открывать их в экстрактах из смеси разных микробов, если имеются достаточно чувствительные сыворотки.

Это положение использовано для методики ускоренной диагностики кишечных инфекций, разработанной в Московском городском институте эпидемиологии и бактериологии. Метод чувствителен и специфичен. Он выявляет присутствие искомым микробов, даже когда их очень мало (40—60 млн.) или они недоступны для выделения обычными бактериологическими способами<sup>1</sup>.

Гаптен получают из смыва первичного посева испражнений на чашку с любой средой. Как и для бактериологического исследования, по агаровой поверхности размазывают кусочек слизи, гноя или просто каплю испражнений (или любого другого материала). При этом нет надобности заботиться о росте отдельных колоний; наоборот, чем гуще первичный посев, тем больше шансов, что на чашке будут и дизентерийные микробы. Через 18—20 часов пребывания в термостате посев смывают 4—5 см<sup>3</sup> 1% уксусной кислоты. Смыв сливают в пробирку и кипятят на водяной бане от 30 минут до 1 часа. Затем эмульсию фильтруют через асбестовую вату. Употребляется та же вата, которая идет для реакции Асколи; небольшой ее комок плотно (но не слишком) закладывают в маленькую воронку, которую вставляют в пробирку. После фильтрования получается бесцветный прозрачный фильтрат, который нейтрализуется 20% раствором углекислой соды в присутствии индикатора. Последним является спиртовый водный раствор розоловой кислоты (0,1 г розоловой кислоты + 10 см<sup>3</sup> спирта + 70 см<sup>3</sup> дистиллированной воды) или раствор бромтимолблау. Если при подщелачивании появляется муть, то фильтрование повторяется. Прозрачный фильтрат наслаивается в узеньких пробирках на преципитирующую сыворотку, цельную или разведенную пополам. На границе двух жидкостей должна быть видна ясно очерченная грань, на которой в положительных случаях появляется белое кольцо. Наблюдение за реакцией ведется в течение 2—3 часов. Если в этот срок кольцо не образовалось, результат надо считать отрицательным.

Особое внимание следует уделить преципитирующей сыворотке. Чем выше ее преципитационный титр, тем чувствительнее реакция. С другой стороны, не все сыворотки, которые преципитируют с полным антигеном, реагируют с гаптенom. Поэтому каждую серию сыворотки нужно протитровать с заведомым гаптенom, полученным из гомологичной культуры. Смыв с культуры обрабатывается, как описано выше, и в разведениях 1:2; 1:4; 1:8; 1:16 и т. д. наслаивается на сыворотку. Чем выше разведение гаптена, с которым еще получена кольцепреципитация, тем более пригодна сыворотка для работы. Сыворотка группы Гисс-Флекснера должна охватывать все серологические типы.

Многие продажные агглютинирующие сыворотки обладают хорошим преципитационным титром, поэтому по приведенному способу можно

<sup>1</sup> Штейман Э. Б., ЖМЭИ, № 5—6, 1941; Попкова и Черепнина, ЖМЭИ, № 4—5, 1944; Червяков, Маркова и Коган, ЖМЭИ, № 4, 1946; Гольденберг, Чеботарева и Ищенко, Труды Украинского института им. Мечникова, т. X, 1946; Рутштейн Н. Д., Диссертация, 1947.



отобрать для реакции с гаптенем пригодную сыворотку из агглютинирующих.

3) **Реакция Предтеченского.** Быстрая диагностика по Предтеченскому может быть причислена к серологическим методам исследования при дизентерии.

Испражнения больного размешивают в физиологическом растворе в соотношении 1:5—1:15, добавляют 1—2 капли формалина и взвесь после небольшого отстаивания выливают на бумажный фильтр. Полученный фильтрат наносят большими каплями на стекло и растирают в них петлей суточные агаровые культуры микробов Шига и Гисс-Флекснера, каждую в отдельной капле до получения равномерной, не слишком густой взвеси. При положительном результате реакция агглютинации иногда наступает немедленно, иногда задерживается до 30 минут; при замедленной реакции предметное стекло помещают во влажную камеру и в ней — в термостат.

В качестве антигена можно употреблять вместо живых культур диагностикумы<sup>1</sup>. В этом случае реакция становится менее чувствительной, протекает медленнее (до 1 часа); хлопья получаются более мелкие; учитывать результаты нужно с лупой.

## ОБНАРУЖЕНИЕ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ

1) **Общие указания к исследованию.** Полное знакомство с методами исследования при кишечных инфекциях требует также умения обнаружить холерного вибриона.

Как и при прочих кишечных инфекциях, исследование при холере может касаться материала, взятого от острых больных или из их трупов, или от лиц из окружения больных, от переболевших холерой и т. п. Таким образом, исследование может преследовать диагностические или профилактические цели.

Холерный вибрион представляет собой короткую палочку, изогнутую наподобие запятой; часто две палочки лежат в ряд таким образом, что дуги их обращены в противоположные стороны, вследствие чего получается фигура буквы S.

Вибрион очень подвижен; он снабжен одним длинным жгутом на одном из полюсов, но при помощи этого жгута передвигается в 5 раз быстрее палочки брюшного тифа. В старых культурах вибриона встречаются инволюционные формы в виде длинных нитей, спирилл, шаров и т. п. Вибрион легко окрашивается всеми анилиновыми красками, по Граму же обесцвечивается.

Как все вибрионы, он легко выращивается на обычных питательных средах, но оптимальными для него являются среды со щелочной реакцией; при слабо кислой или нейтральной реакции вибрион не растет. Очень обильно он размножается на пептонной воде, главным образом на ее поверхности. Холерный вибрион — облигатный аэроб, т. е. растет только при доступе кислорода.

2) **Собирание материала.** Материалом для исследования служат обычно испражнения и рвотные массы от острых больных, испражнения от реконвалесцентов и носителей, содержимое кишечника и желчного пузыря из трупов. Испражнения или рвотные массы собираются возможно стерильно; если материал нужно пересылать, то его помещают в стерилизованную широкогорлую стеклянную баночку или в специальный

<sup>1</sup> Стандартизованная взвесь микробов, убитых прибавлением формалина (0,1%).



стеклянный цилиндр, который обычно снабжен деревянным футляром с крышкой. Цилиндр с футляром помещают в металлическую коробку, которую запаивают. Очень важно, чтобы испражнения не содержали ни малейшей примеси дезинфицирующих веществ.

Испражнения от носителей при массовом обследовании можно смешивать от нескольких человек вместе (по 5 испражнений). При обнаружении вибрионов в материале от такой группы повторно обследуется раздельно каждый из 5 человек.

Материал из трупа исследуется по возможности быстро после смерти. Тонкую кишку в самой нижней ее части перевязывают 2 раза на расстоянии примерно в 10 см. На каждом конце такого участка кишки накладывают по две перевязки, между которыми разрезают кишку. Завязанный отрезок кишки кладут в чистую сухую банку (без примеси дезинфицирующих веществ), закрытую притертой или другой плотной пробкой, упаковывают в ящик или металлическую банку и отправляют в лабораторию. Для взятия желчного пузыря перевязывают желчный проток, отрезают пузырь и упаковывают так же, как описано выше для кишки.

3) **Микроскопическое исследование.** Если материал содержит много холерных вибрионов, то их легко обнаружить при простом бактериоскопическом исследовании рвотных или каловых масс или, лучше, комочка слизи; последняя размазывается тонким слоем на предметном стекле, фиксируется над пламенем горелки и окрашивается разведенным карболовым фуксином (стр. 668.). При микроскопическом изучении такого мазка между эпителиальными клетками и гнойными тельцами можно обнаружить целые гнезда холерных вибрионов (рис. 362), расположенных весьма характерно — стайками.

Кох считал, что приблизительно в 50% случаев можно поставить диагноз азиатской холеры только на основании описанного выше микроскопического исследования испражнений. Однако в дальнейшем оказалось, что в природе и особенно в воде встречается ряд холероподобных вибрионов, которые микроскопически не отличаются от холерного; поэтому необходимо во всех подозрительных случаях производить полное бактериологическое исследование.

4) **Бактериологическое исследование.** Около 1 см<sup>3</sup> жидких испражнений (или эмульсии из плотных) либо рвотных масс засевают в колбочку или обыкновенный стакан со 100 см<sup>3</sup> пептонной воды (рН=8,0—8,4). Предварительный посев на пептонную воду является методом обогащения, так как на этой питательной среде вибрионы быстро размножаются, опережая других микробов; скопляясь в огромных количествах на поверхности жидкости, вибрионы большей частью образуют нежную пленку.

Одновременно с посевом на пептонную воду 1—2 петли материала следует засеять на чашки со щелочным агаром или средой Дьедонне; вибрионы нередко вырастают непосредственно на твердых средах, и, таким образом, продолжительность исследования сокращается.

Через 6 часов пребывания посевов на пептонной воде в термостате осторожно, не встряхивая, снимают прокаленной петлей с поверхности 2—3 капли и исследуют сначала микроскопически на свежих и окрашенных препаратах; найдя вибрионы, берут вторично петлей с поверхности 2—3 капли, засевают на 2—3 чашки с щелочным агаром или со средой Дьедонне и ставят в термостат. Пересев на чашки следует делать и в том случае, если не удалось обнаружить вибрионов в мазке из пептонной воды. Посев на пептонной воде при этом остав-



ляют в термостате и исследуют повторно через 12—24 часа. Рекомендуется также в тех случаях, когда в пептонной воде через 6 часов не обнаружено роста вибрионов, сделать пересев из верхнего слоя жидкости на новую порцию пептонной воды.

Посев в чашках исследуют через 8—16 часов. Колонии холерных вибрионов на щелочном агаре мелкие, прозрачные, имеют голубоватый оттенок; на агаре Дьедонне они сочны, блестящи. Из части подозрительных колоний делают мазки, смотрят раздавленную каплю (подвижность), и если найдены вибрионы, то остаток колонии пересевают в пробирку с косым щелочным агаром для выделения чистой культуры и в пробирку с пептонной водой для производства реакции на индол.

Через 8—12—18 часов проверяют агаровую культуру при помощи реакции агглютинации со специфической сывороткой. Результат реакции проявляется нередко после 30-минутного стояния в термостате, однако обычно выдерживают пробирки в термостате 2 часа. Агглютинация считается доказательной, если она дает положительный результат в разведении сыворотки 1:1 000 при титре сыворотки 1:4 000—1:6 000.

Для более быстрого получения результата можно проделать реакцию агглютинации с материалом из подозрительной колонии на предметном стекле. Для этого на предметное стекло ближе к одному краю кладут каплю агглютинирующей сыворотки в разведении 1:100 (при титре не ниже 1:4 000), а ближе к другому краю стекла — каплю физиологического раствора. Затем петлей прикасаются к подозрительной колонии и размешивают приставшие микроорганизмы в капле солевого раствора; после обжигания петли ею прикасаются вторично к той же колонии и размешивают материал в капле агглютинирующей сыворотки. Покачивая стекло, дают обоим каплям растечься. Во второй из них должна получиться агглютинация. Агглютинация видна простым глазом или при помощи лупы. Дав мазкам высохнуть, их можно фиксировать и окрасить.

Для холерных вибрионов характерно образование индола в пептонной воде или бульоне. При этом положительный результат реакции на индол получается от прибавления нескольких капель крепкой серной кислоты или лучше 1 см<sup>3</sup> 10% раствора ее без прибавления нитритов, так как вибрионы одновременно сами восстанавливают нитраты в нитриты.

Реакция эта носит название нитрозоиндоловой. Она позволяет отличить вибрионы от кишечной палочки, которая также вырабатывает индол, но нитраты не восстанавливает. Однако она недостаточно специфична, так как некоторые холероподобные вибрионы тоже дают эту реакцию.

**5) Холероподобные вибрионы.** К холероподобным вибрионам принадлежат: вибрион Финклера и Приора, открытый в испражнениях людей при остром гастроэнтерите; вибрион Денеке, выделенный из сыра; вибрион Мечникова, описанный Гамалея при эпидемическом энтерите у кур, и др. Все эти вибрионы морфологически и по характеру роста сходны с холерным, но холерной сывороткой не агглютинируются. Однако многие холероподобные вибрионы обладают общим жгутиковым антигеном с холерным. Поэтому для уточнения диагностики выделенного вибриона пользуются соматическими (O) сыворотками в реакции агглютинации, а также реакцией лизиса холерным бактериофагом.

Во всех случаях выделения вибрионов в лабораториях больниц, клиник, в эпидемиологических лабораториях штаммы должны быть немедленно переданы для детального изучения в соответствующий институт микробиологии. В институты должен передаваться также материал во всех сомнительных и подозрительных случаях.



Ответы даются по ходу исследования: 1) первый предварительный ответ через 6—8 часов; 2) второй предварительный ответ через 20—24 часа; 3) окончательный ответ через 36 часов.

Детали исследования см. в книгах: «Микробиологические методы исследования при инфекционных заболеваниях» под редакцией Синая и Биргера; Коробкова «Эпидемиология и микробиология холеры» и др.

## ОБНАРУЖЕНИЕ АНАЭРОБНЫХ МИКРОБОВ

Исследование различных материалов и объектов на анаэробную флору обычно производится в специальных лабораториях. Однако иногда в бактериологических лабораториях обычного типа возникает необходимость определить, нет ли в изучаемом материале анаэробных бацилл. В этом случае можно воспользоваться несколькими простыми приемами.

1) **Микроскопическое исследование.** Мазки из материала или культуры готовятся обычным способом. Если культура была залита маслом, то кончик пастеровской пипетки, которой извлекалась капля культуры, обтирается кусочком ваты, смоченной эфиром или смесью спирта с эфиром. Мазки фиксируются на пламени и окрашиваются по Граму.

Под микроскопом изучаются форма, величина микробов, их расположение, форма концов, наличие или отсутствие спор, их форма, расположение. Изучают также подвижность бацилл в раздавленной капле. Большую каплю культуры быстро покрывают покровным стеклом так, чтобы не было пузырьков воздуха.

2) **Методика бактериологического исследования.** Посев исследуемого материала производят обязательно в регенерированные среды, т. е. после предварительного кипячения их в водяной бане в течение 15 минут и быстрого охлаждения в холодной воде. Каждый посев следует контролировать на присутствие в материале аэробов, для чего одновременно делают высев на чашку с кровяным или сахарным агаром. Наилучшей первичной средой накопления является среда Тароцци. Эта же среда пригодна для сохранения культур.

Материал для посева делится на две порции: одна из них используется для прямого посева, другая прогревается на водяной бане при 60° в течение 30 минут. Еще лучше произвести необходимые посевы в двойное количество пробирок со средами и одну серию посевов оставить без обработки, а другую — прогреть при 60° для уничтожения аэробных микробов. Если исследуется гной или кровь, то прогревать можно только после посева.

Кусочки пораженной ткани растирают в стерильной ступке с бульоном из среды Тароцци и с полученной взвесью поступают, как было описано для жидких объектов.

При отсутствии специальной аппаратуры удобно пользоваться для посева методом Л. Г. Перетца. Этот метод основан на химическом поглощении кислорода, однако при особых условиях посева.

Для посева должны быть заготовлены: 1) 3 пробирки с физиологическим раствором по 5—10 см<sup>3</sup> в каждой (стерильные); 2) 3 пробирки с питательным агаром (рН=7,0—7,2), содержащим 1% глюкозы, по 18—20 см<sup>3</sup> в каждой; перед посевом этот агар растапливают на водяной бане, кипятят в течение 15 минут для вытеснения растворенного в нем воздуха и охлаждают до 45°; 3) 10% раствор гидросульфита натрия ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) в 10% растворе углекислой соды; хранится под слоем жидкого парафина; или 4) 8% раствор аскорбиновой кислоты в 10% растворе угле-



кислой соды; раствор соды предварительно стерилизуют кипячением, раствор аскорбиновой кислоты пригоден для работы в течение 2—3 дней после приготовления; 5) стерильные чашки Петри; 6) стерильные кусочки стекла или маленькие стеклышки или спички (подставки); 7) стерильные стеклянные квадратные пластинки размером 6 × 6 см.

Самый посев производится следующим образом. Исследуемый материал разводят в физиологическом растворе, для чего запаянную пастеровскую пипетку погружают в материал, затем переносят ее в первую пробирку с физиологическим раствором. Ополоснув пипетку 1—2 вращательными движениями, переносят ее последовательно в остальные 2 пробирки с физиологическим раствором и 3 с расплавленным агаром. В пробирки с засеянным таким образом агаром добавляют по 2—4 капли раствора гидросульфита натрия или по 0,1 см<sup>3</sup> раствора аскорбиновой кислоты. Содержимое пробирок быстро перемешивают, вращая их между ладонями рук, и выливают в 3 чашки Петри, на дне которых заранее уложены на подставках (стеклышки или спички) квадратные стеклянные пластинки. Агар выливают сбоку от пластинок, под которые он быстро затекает. Высота слоя агара под стеклом 1—2 мм. Агару дают застыть и ставят чашки в термостат при 37°. Через 10—18 часов под пластинкой вырастают колонии анаэробных микробов, а вокруг пластинки — аэробных. Пересев колоний анаэробов производят, отодвинув стеклянную пластинку.

Методика рассева по Вейон-Виньялю. По этому методу исходный материал разводится многократно в глубоком слое полужидкого агара. Агар в столбиках готовят в пробирках длиной 30 см и диаметром 0,8 см, заткнутых ватой. Агар лучше брать малой плотности (0,2—0,5%) с небольшим (0,1—0,5%) содержанием глюкозы во избежание разрыва среды; он должен быть совершенно прозрачен. Стекло пробирок нетугоплавкое и не очень толстое. Порядок засева следующий: в двурядный штатив устанавливают два ряда пробирок; каждый из них состоит из 2 пробирок с бульоном и 6 пробирок со столбиками регенерированного агара, остуженного до 60°.

В первую пробирку вносят пастеровской пипеткой 5 капель культуры или разведенного материала; после перемешивания из нее переносят 5 капель во вторую главную пробирку с бульоном. Сюда вводят тонкий конец запаянной пастеровской пипетки, и той же пипеткой производят последовательные разведения в 6 пробирках первого ряда; при этом в первой пробирке производят один поворот, во второй — 2—3 и т. д.; в последних пробирках количество поворотов увеличивают для того, чтобы стряхнуть остатки с отдельными микробами. Таким же способом производится рассев и во втором ряду. После засева пробирки каждого ряда быстро остужают под струей холодной воды или в стакане. На другой день после выдерживания в термостате отбирают пробирки, в которых имеется небольшое количество отдельных колоний.

Обычно анаэробы растут в глубоких слоях агара, ниже 1 см от верхнего края, аэробы — поверх агара, факультативные анаэробы — по всему столбику. После изучения формы колоний с лупой отбирают колонии для пересева, который производится после распила пробирки насасыванием колонии с агаром пастеровской пипеткой с резиновой трубкой и стеклянным наконечником. Захваченную колонию засевают в регенерированную среду Тароцци. При навыке количество пробирок с агаром при рассеве можно сократить до минимума и делать один ряд разведений, которые выбираются в зависимости от количества анаэробных микробов в материале.



Принимая во внимание неодинаковую теплоустойчивость спор анаэробных микробов, рекомендуется смешанные культуры обработать нагреванием. Первичный посев из прогретого при 60° материала на среде Тароцци следует развести физиологическим раствором и дополнительно прогреть при 100° в течение 5, 10, 20 и 40 минут. После прогрева засеять на среду Тароцци каждую порцию.

На следующий день из прогретого таким образом материала делают посевы по методу Вейона и на чашки с кровяным агаром.

Для идентификации бацилл газовой гангрены полезным оказывается посев подозрительного материала на среду Робинзон — Стовалла, которая состоит из стерильного молока с прибавлением хлористого железа (см. «Питательные среды»).

На этой среде *B. perfringens* дает быстрое почернение и образование губчатого сгустка, *B. histolyticus* пептонизирует молоко, а *Vibrio septicus* и *B. oedematis* не вызывают характерных изменений.

Изучение биохимических свойств анаэробов проводится в направлении протеолитической (расщепление белка) и сахаролитической (расщепление углеводов) способности. Процессы расщепления у не особенно строгих анаэробов можно наблюдать при обычном посеве в регенерированную среду с последующим прибавлением слоя стерильного парафинового масла. Строгие анаэробы нуждаются в удалении воздуха из окружающей среды, что достигается в специальных аппаратах (см. выше).

Для определения протеолитической ферментативной способности культуры ее засевают в нейтральный бульон с кусочком свернутого яичного белка, свернутой сыворотки или мяса. Под влиянием фермента эти кусочки растворяются. Этот процесс растворения можно наблюдать также в молоке на растворении свертка казеина. В среде Тароцци при росте микробов, обладающих протеолитическим ферментом, наступает размельчение и растворение кусочков мяса (или печени).

Сахаролитические свойства анаэробов определяются по расщеплению углеводов с образованием кислоты и газа. Для этой цели употребляется бульон или пептонная вода с прибавлением различных углеводов: глюкозы, козы, леулезы, лактозы, галактозы, сахарозы, инулина и т. д. Для ориентировки достаточно пользоваться одной средой с глюкозой.

Ниже приводится характеристика анаэробных микробов, встречающихся при диагностической работе бактериологической лаборатории (табл. 63).

## ОБНАРУЖЕНИЕ ТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ПАЛОЧЕК

Распознавание туберкулезных микробов, патогенных для человека, затрудняется существованием ряда кислотоупорных бактерий, сапрофитов, встречающихся на поверхности тела человека (*Mycobacterium smegmatis*), в почве, воде, навозе, на медных инструментах и т. д. Такие кислотоустойчивые сапрофиты можно найти в мокроте при бронхоэктазах, в моче, промывных водах желудка.

В некоторых случаях решить вопрос о природе кислотоупорного микроба невозможно, если пользоваться только бактериоскопией. Тогда необходимо прибегнуть к посеву.

Методика бактериологического обнаружения туберкулезных микробов основана на способности этой бактерии противостоять воздействию кислот и щелочей. Туберкулезная палочка после такой обработки остается вполне жизнеспособной, что позволяет еще до посева материала избавиться от находящихся в нем посторонних микробов.



## Основные свойства анаэробных микробов, встречающихся при диагностической работе лабораторий

Название микроба	Морфология				Форма колонии	
	форма и величина палочек	подвижность	споры		в столбиках агара	на кровяном агаре
			расположение	устойчивость к кипячению		
<i>B. perfringens</i> , <i>B. welchii</i>	Толстая, крупная, иногда короткая, в живом организме — капсулы	—	Споры в живом организме очень редко; центральные или субтерминальные	8—90 минут	1. Дiskoобразные, чечевицеобразные, трехрогие 2. Редко мохнатые	Круглые, сочные, сероватые, оливковые, зеленые с зоной гемолиза
<i>B. oedematis</i>	Толстая, длинная, с закругленными концами, часто в цепочках	+	Овальные центральные или субтерминальные	До 60 минут	Пушистая колония с центром и тоненькими нитями	Шероховатые, выпуклые, в центре багровые, на периферии зона гемолиза
<i>Vibrio septicus</i>	Тонкая с закругленными концами дает длинные нити	+	Центральные или субтерминальные; образуются через сутки	2—42 минуты	1. Хлопьевидные с древовидно разветвляющимися отростками 2. В форме сердца с пучком нитей	Нежный кружевной рост, извитые нити, завивки, арабески, зона гемолиза
<i>B. histolyticus</i>	Маленькая с закругленными концами	+	Овальные и субтерминальные вроде игольного ушка	60—90 минут	Плотные, ветвистые темно-желтого цвета	Мелкие, гладкие, похожие на росинки. Без гемолиза
<i>B. tetani</i>	Тонкая с закругленными концами	+	Концевые	100° 1—3 часа	Комочки ваты	Нежный рост в виде переплетающихся нитей
<i>B. botulinus</i>	Длинная с закругленными краями	+	Концевые	115° 8 минут 100° 6 часов	Форма ватного комка с нитями из плотного центра	Неправильные с отростками, зона гемолиза
<i>B. sporogenes</i> (часто встречается в ранах)	Крупная с закругленными краями	+	Обильное спорообразование, центральное, субтерминальное	1—2 часа	Форма ватного комка с короткими нежными нитями и плотным центром	Серые, выпуклые, неправильные с корневидными отростками, зона гемолиза

## Основные свойства анаэробных микробов, встречающихся при диагностической работе лабораторий

Протолитические свойства					Сахаролитические свойства													Патогенность для животных	
исследуемая среда	бульон со свернутой сырой желатиной	бульон с кукурузными початками	бульон с мясом	среда с мясом	молоко	глюкоза	левулеза	лактоза	галактоза	сахароза	мальтоза	инулин	крахмал	маннит	дульцит	салицин	глицерин	гемоліз	Патогенность для животных
+	-	-	-	-	Бурное свертывание, пептонизация, губчатый сгусток, газообразование	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	Пузыри газа, размягчение мышц и распад (лигнус)
+	-	-	-	-	Медленно свертывается мелкими хлопьями несколько дней	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	Студенистый отек подкожной клетчатки
+	-	-	-	-	Очень позднее свертывание	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	Кровянисто-серозный отек с экссудатом в полостях
+	Пептонизация	Пептонизация	Переваривание	-	Полная пептонизация	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Расплавление тканей, обнажение костей
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Параличи
+	+	+	+	+	Пептонизация	+	±	+	-	-	+	-	±	-	-	-	±	+	Параличи, размягчение мышц
+	+	+	+	+	Пептонизация	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	+	Не патогенен

711



Основные свойства анаэробных микробов, встречаю

Название микроба	Морфология				Форма колонии	
	форма и величина палочек	подвижность	споры		в столбцах агара	на кровяном агаре
			расположение	устойчивость к кипячению		
<i>B. perfringens</i> , <i>B. welchii</i>	Толстая, крупная, иногда короткая, в живом организме — капсулы	—	Споры в живом организме очень редко; центральные или субтерминальные	8—90 минут	1. Дiskoобразные, чечевицеобразные, трехрогие 2. Редко мохнатые	Круглые, сочные, сероватые, оливковые, зеленые с зоной гемолиза
<i>B. oedematis</i>	Толстая, длинная, с закругленными концами, часто в цепочках	+	Овальные центральные или субтерминальные	До 60 минут	Пушистая колония с центром и тоненькими нитями	Шероховатые, выпуклые, в центре бахромчатые, на периферии зона гемолиза
<i>Vibrio septicus</i>	Тонкая с закругленными концами дает длинные нити	+	Центральные или субтерминальные; образуются через сутки	2—42 минуты	1. Хлопьевидные с древовидно разветвляющимися отростками 2. В форме сердца с пучком нитей	Нежный кружевной рост, извитые нити, завитки, арабески, зона гемолиза
<i>B. histolyticus</i>	Маленькая с закругленными концами	+	Овальные и субтерминальные вроде игольного ушка	60—90 минут	Плотные, ветвистые темного желтого цвета	Мелкие, гладкие, похожие на росинки. Без гемолиза
<i>B. tetani</i>	Тонкая с закругленными концами	+	Концевые	100° 1—3 часа	Комочки ваты	Нежный рост в виде переплетающихся нитей
<i>B. botulinus</i>	Длинная с закругленными краями	+	Концевые	115° 8 минут 100° 6 часов	Форма ватного комка с нитями из плотного центра	Неправильные с отростками, зона гемолиза
<i>B. sporogenes</i> (часто встречается в ранах)	Крупная с закругленными краями	+	Обильное спорообразование, центральное, субтерминальное	1—2 часа	Форма ватного комка с короткими нежными нитями и плотным центром	Серые, выпуклые, неправильные с корневидными отростками, зона гемолиза



щихся при диагностической работе лабораторий

Протеолитические свойства					Сахаролитические свойства												Патогенность для животных	
желатина	бульон со свернутой сы- вороткой	бульон с ку- сочками яйца	среда с мясом	молоко	глюкоза	левулеза	лактоза	галактоза	сахароза	мальтоза	инулин	крахмал	маннит	дульцит	салицин	глицерин		Гемолиз
+	-	-	-	Бурное свер- тывание, пептониза- ция, губча- тый сгусток, газообразо- вание	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	±	+	Пузыри газа, размягчение мышцы и рас- пад (лигнус)
+	-	-	-	Медленно свертывает- ся мелкими хлопьями несколько дней	+	-	±	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	Студенистый отек подкожной клетчатки
+	-	-	-	Очень позд- нее сверты- вание	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	Кровянисто-се- розный отек с экссудатом в полостях
+	Пептонизация	Пептонизация	Переваривание	Полная пеп- тонизация	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Расплавление тканей, обнаже- ние костей
+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Параличи
+	+	+	+	Пептониза- ция	+	±	+	-	-	+	-	±	-	-	-	±	+	Параличи, раз- мягчение мышц
+	+	+	+	Пептониза- ция	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	+	Не патогенен

711



Название микроба	Морфология				Форма колоний	
	Форма и величина палочек	Подвижность	Споры		в столбиках агара	на кровяном агаре
			расположение	устойчивость к кипячению		
<i>B. bifementans</i> <i>B. putrificus</i> <i>tenulis</i>	Палочки с закругленными концами, капсула	+	Овальные субтерминальные	1 1/2 минуты	Чечевичеобразные, а затем изогнутые в форме малины	
<i>B. aerofetidus</i>	Палочки с закругленными концами	+	Без спор		Форма сердца	
<i>B. putridus</i> Bienstock	То же	+	Овальные концевые, позднее образование	1—2 часа	Грубый хлопьевидный комок на 3—4-й день	Отросчатые колонии (черешках)
<i>B. fallax</i>	Палочки с закругленными концами, капсула	+	Субтерминальные овальные	1 минута	Форма сердца с пучком нитей	Мелкая гладкая
<i>B. tertius</i>	Капсулы нет	+	Овальные концевые	8 минут	Древовидные	Круглые, без гемолиза
<i>B. multifementans</i>	Палочки с закругленными концами	+	Овальные субтерминальные	5—10 минут	Хлопьевидные	
<i>B. tetanomorphus</i>	То же	+	Круглые концевые	1—2 часа	Маленькие прозрачные с правильными краями	В виде виноградного лоза
<i>B. sphenoides</i>	Веретенообразные палочки, пепочки	+	Круглые субтерминальные	2—10 минут	Круглые и неправильной формы	Круглая
<i>B. cochlearius</i>	В форме ложки со спорой	+	Овальные концевые (редко)	1—3 часа	Сначала маленькие прозрачные, потом с отростками	Нежные хлопья

Протолитические свойства					Сахаролитические свойства													Патогенность для животных	
испытание	с бульоном со свертывающей сывороткой	бульон с кукурузным агаром	среда с мясом	молоко	глюкоза	левулоза	лактоза	галактоза	сахароза	мальтоза	инулин	крахмал	маннит	гульцит	салицин	глицерин	Гемолит	Патогенность для животных	
+	+	+	+	Пептонизация	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	При росте на кровяном агаре	
+	+	+	+	•	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	Не патогенен	
+	±	±	±	•	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
-	-	-	-	•	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-		
-	-	-	-	Свертывание	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+		
-	-	-	-	Медленное свертывание	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	Медленное мелкозернистое свертывание	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	Медленное свертывание	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-		
-	-	-	-	Очень медленное свертывание	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

713



Название микроба	Морфология				Форма колонии	
	Форма и величина палочек	Подвижность	Споры		в столбиках агара	на кровяном агаре
			расположение	устойчивость к кипячению		
<i>B. bifermentans</i> <i>B. putrificus</i> <i>tenulis</i>	Палочки с закругленными концами, капсула	+	Овальные субтерминальные	1 1/2 минуты	Чечевичеобразные, а затем изогнутые в форме малины	
<i>B. aerofoetidus</i>	Палочки с закругленными концами	+	Без спор		Форма сердца	
<i>B. putridus</i> Bienstock	То же	+	Овальные концевые, позднее образование	1—2 часа	Грубый хлопьевидный комок на 3—4-й день	Отросчатые колонии (черепахи)
<i>B. fallax</i>	Палочки с закругленными концами, капсула	+	Субтерминальные овальные	1 минута	Форма сердца с пучком нитей	Мелкая гладкая
<i>B. tertius</i>	Капсулы нет	+	Овальные концевые	8 минут	Древоподобные	Круглые, без гемолиза
<i>B. multifementans</i>	Палочки с закругленными концами	+	Овальные субтерминальные	5—10 минут	Хлопьевидные	
<i>B. tetanomorpha</i>	То же	+	Круглые концевые	1—2 часа	Маленькие прозрачные с правильными краями	В виде виноградного листа
<i>B. sphenoides</i>	Веретенообразные палочки, цепочки	+	Круглые субтерминальные	2—10 минут	Круглые и неправильной формы	Круглая
<i>B. cochlearius</i>	В форме ложки со спорой	+	Овальные концевые (редко)	1—3 часа	Сначала маленькие прозрачные, потом с отростками	Нежные хлопья



Протолитические свойства					Сахаролитические свойства													Патогенность для животных	
желатина	бульон со свернутой сывороткой	бульон с кусочками яйца	среда с мясом	молоко	глюкоза	левулеза	лактоза	галактоза	сахароза	мальтоза	инулин	крахмал	маннит	дульцит	салицин	глицерин	Гемолиз	Патогенность для животных	
+	+	+	+	Пептонизация	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	При росте на кровяном агаре	
+	+	+	+	•	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	Не патогенен	
+	±	±	±	•	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
-	-	-	-	•	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-		
-	-	-	-	Свертывание	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+		
-	-	-	-	Медленное свертывание	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	Медленное мелкозернистое свертывание	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	Медленное свертывание	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-		
-	-	-	-	Очень медленное свертывание	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

713



Туберкулезная палочка характеризуется некоторыми основными свойствами, используемыми для ее дифференцирования. Она неподвижна, размножается только в живом организме или на питательных средах специального состава (обычно с глицерином и яичным желтком); на обычных питательных средах не растет. Оптимальная температура, при которой растет туберкулезная палочка, равна  $37^{\circ}$ , хотя возможен рост в пределах  $30-42^{\circ}$ . Для размножения туберкулезных микробов требуется длительное время; на искусственных питательных средах рост появляется только через 10—30 дней. Колонии туберкулезных палочек имеют своеобразный вид, отличающийся шероховатостью (в виде плоских чешуек с возвышенным центром или розеток с углублением в центре), или же они могут быть гладкими, блестящими, похожими на капли. На жидких питательных средах образуется толстая морщинистая пленка.

**1) Посев материала.** Посеять можно мокроту, мочу, промывные воды желудка, кал, кровь, гной, экссудаты, спинномозговую жидкость.

Мокроту обрабатывают до посева серной или соляной кислотой. К 3 см<sup>3</sup> мокроты (отобрать гнойные комочки) добавляют 6 см<sup>3</sup> 6% серной кислоты, встряхивают в течение 10 минут (можно в шюттель-аппарате) и центрифугируют 20 минут при 3 000 об/мин. Жидкость сливают и осадок нейтрализуют 1—2 каплями 3% раствора едкого натра. Сеют осадок. При пользовании соляной кислотой воздействуют 3% раствором в течение 2 часов при комнатной температуре без встряхивания.

Мочу центрифугируют и сеют осадок. Можно концентрировать мокроту и мочу методом флотации (см. «Мокрота»).

Посев промывных вод следует производить не позднее чем через 6 часов после взятия материала. Центрифугируют, сеют осадок.

Кал растирают в стерильной ступке с дистиллированной водой (5 г кала + 10 см<sup>3</sup> воды). Оставляют на полчаса в покое для осаждения крупных частиц. Образовавшуюся на поверхности пленку снимают стерильной ложкой, которую смывают 10 см<sup>3</sup> 4% раствора едкого натра в пробирку. Взвесь оставляют на 3 часа в термостате при периодическом встряхивании. Центрифугируют, осадок нейтрализуют несколькими каплями 8—10% раствора соляной кислоты под контролем лакмусовой бумажки.

Кровь употребляют цитратную. 5 см<sup>3</sup> крови стерильно берут в пробирку с 3 см<sup>3</sup> 10% раствора лимоннокислого натрия. Тщательно перемешивают встряхиванием. Дают отстояться в течение 2—3 часов или центрифугируют. Плазму стерильно отсасывают, а осадок переносят в колбу с 50 см<sup>3</sup> стерильной дистиллированной воды. Осторожно встряхивают и переливают в центрифужные пробирки. Центрифугируют 5—10 минут при 3 000 об/мин. Сливают жидкость, к осадку добавляют дистиллированную воду, взбалтывают и вновь центрифугируют. Снова сливают жидкость и осадок смешивают с 1 см<sup>3</sup> 15% раствора серной кислоты. Встряхивают 3 минуты, добавляют 5 см<sup>3</sup> стерильной дистиллированной воды, центрифугируют, сливают жидкость. К осадку добавляют 1 см<sup>3</sup> стерильного физиологического раствора, размешивают и стерильной пипеткой наносят на питательную среду.

Гной, экссудат, спинномозговую жидкость центрифугируют. Если осадок не содержит посторонних микробов, его прямо переносят на питательную среду. Если же материал не стерилен, то его обрабатывают, как мокроту.

Посев производят пастеровской пипеткой или петлей. Среда должна содержать не меньше 0,5 см<sup>3</sup> конденсационной воды. При отсутствии последней можно предварительно до посева налить столько же физиологического раствора. Обычно пользуются средами Любенау и Петраняни.



Посев производят не менее чем в 5 пробирок. После того как материал внесен в пробирку и распределен по поверхности питательной среды тонким слоем, пробирки закрывают ватной пробкой, как обычно. Затем подрезают верхнюю наружную часть пробки и заливают расплавленным парафином.

Посевы остаются в термостате при 37° длительное время. Рост появляется на 10—30-й день. Если роста нет и через 6—8 недель, то все же соскабливают поверхность среды и делают мазок, который окрашивают по Циль-Нильсену и микроскопируют. Иногда удается в этих случаях обнаружить кислотоупорные палочки (рис. 363). При появлении колоний также изучают наличие в них кислотоустойчивых палочек.

**2) Упрощенный метод выращивания из пунктатов<sup>1</sup>.** Метод применяется для выращивания туберкулезных микробов из патологического материала, не содержащего посторонней флоры (серозные экссудаты, спинномозговые и асцитические жидкости и т. п.). Пунктаты от нескольких капель до 0,5 см<sup>3</sup> (в зависимости от количества доставленного материала) без предварительной обработки засевают на 1—2 пробирки сахарного бульона (1—2% глюкозы). При наличии фибринозной пленки засевают также кусочки пленки.

Если после двухдневного пребывания в термостате при 37° отсутствует рост гноеродной флоры, парафинируют пробки и выдерживают пробирки при 37—38° 2—2½ месяца, просматривая их каждые 5—7 дней.

К концу 3 недель обычно появляется начальный рост. На дне пробирок с прозрачным бульоном можно заметить небольшой осадок из серовато желтых зернышек или крупинок. Если была посеяна пленка, крупинки прежде всего появляются в ней. В дальнейшем из зернышек образуются плотные конгломераты. Бульон никогда не мутнеет.

Из осадка готовят препараты для микроскопии. При этом нужно пользоваться пастеровскими пипетками с узким просветом, особенно при начальном росте с нежной зернистостью, чтобы не набирать много жидкости.

Препараты типа толстой капли хорошо высушивают (лучше оставлять в термостате до следующего дня) и окрашивают обычным образом по Циль-Нильсену.

В противоположность туберкулезным культурам с плотных питательных сред палочки в бульонных культурах морфологически более сходны с теми, которые обычно встречаются непосредственно в патологическом материале: они длинные, тонкие, зернистые.

**3) Ускоренные методы.** В настоящее время предложены и испытаны ускоренные методы выращивания культур туберкулезных микробов на препаратах-мазках (по Прайсу). Приготавливают мазки из исследуемого материала на нескольких чистых прокаленных предметных стеклах. Препарат стерильным пинцетом погружают на 5 минут в 6% серную кислоту, после чего промывают погружением в физиологический раствор (стерильный). Затем препараты опускают во флаконы с питательной средой (цитратной крови 1 часть + дистиллированной воды 3 части). В течение 7—10 дней на мазках появляются микроколонии, которые обнаруживаются под микроскопом после окраски препарата по Циль-Нильсену (рис. 363).

**Модификация Розенберга<sup>2</sup>.** Выбирают из мокроты 6 гнойных комочков из разных мест, из спинномозговой жидкости берут пленку, из плеврального экссудата — сгусток фибрина, из мочи — осадок. Мате-

<sup>1</sup> Школьников Е. А., Проблемы туберкулеза, № 8, 1936.

<sup>2</sup> Метод апробирован в больнице им. Боткина в Москве.



риал наносят на 2 стекла и растирают между ними. Высушивают, погружают стекла в стаканчик с 8% раствором серной кислоты на 30 минут. Через 30 минут пинцетом (при строгом соблюдении правил асептики) вынимают стекла и на 10 минут погружают в дистиллированную воду. В это время готовят питательную среду. В стерильную широкую пробирку, закрытую ватной пробкой, наливают по 15—20 см<sup>3</sup> (равные количества) синтетической среды (пропись — см. ниже) и стерильной человеческой сыворотки.

Вынимают стекла из воды и быстро погружают в питательную среду, сложив их спинками друг к другу. Ставят пробирки в термостат при 37° на 6 дней. Через 6 дней вынимают пробирки из термостата, достают пинцетом стекла, осторожно промывают, высушивают, фиксируют на огне, красят по Циль-Нильсену.

Пропись синтетической среды: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> — 3 г, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 4 г, MgSO<sub>4</sub> — 0,6 г, аспарагина — 2,5 г, глицерина — 20 см<sup>3</sup>.

Долить дистиллированной водой до 1 л, разлить в широкие пробирки по 15—20 см<sup>3</sup>. Стерилизовать при давлении в 0,5 атм 15 минут.

Хольцман и Школьников<sup>1</sup> указывают, что количество положительных результатов при выращивании туберкулезных палочек по принципу Прайса резко отстает от результатов обычного посева на яичные среды. Для уменьшения этого отставания они предлагают предварительно центрифугировать материал.

Значительно лучшие результаты, по мнению Школьниковой, дает разработанный ею метод глубинного посева на кровяную среду<sup>2</sup>.

Для этого патологический материал обрабатывают 8—10—12% серной кислотой в течение 20 минут (включая процедуру центрифугирования), как было описано выше. Мокроту, вязкий гной вначале тщательно разбивают с кислотой в стерильной баночке с бусами, после чего центрифугируют. Осадок двукратно промывают (с центрифугированием) стерильной дистиллированной водой (избыток кислоты свертывает белки крови и тормозит рост туберкулезных палочек на кровяной среде). Засевают полученный осадок петлей в глубину кровяной среды (на 3 пробирки) (пропись среды см. ниже). Пробирки парафинируют и выдерживают в термостате при 37—38°.

Материал, не содержащий посторонней флоры (серозные экссудаты, спинномозговые, асцитические жидкости и т. п.), засевают на кровяную среду без предварительной обработки.

Посевы (по одной пробирке) извлекают из термостата на 7-й, 10-й или 15—20-й день (в случае возможной задержки роста); переливают содержимое в центрифужные пробирки, центрифугируют и осадок однократно промывают дистиллированной водой, чтобы удалить избыток кровяного пигмента, который в противном случае затрудняет окраску и микроскопирование препаратов<sup>3</sup>. Из промытого осадка готовят мазки на обычных предметных стеклах (хорошо обезжиренных). Высушенные мазки фиксируют на пламени или 2% раствором сулемы 5 минут и окрашивают обычным образом по Циль-Нильсену, обесцвечивают 3% солянокислым алкоголем

<sup>1</sup> Проблемы туберкулеза, № 3, 1947.

<sup>2</sup> Проблемы туберкулеза, № 6, 1948.

<sup>3</sup> При желании получить в руки макрокультуру для дальнейшего изучения (типирование, определение вирулентности и т. д.) процедуры, указанные выше, необходимо производить с соблюдением правил стерильности (стерильные центрифужные пробирки, стерильная вода), и, прежде чем размазать промытый осадок на стеклах, нужно часть его засеять на 1—2 пробирки яичной среды или глицеринового картофеля непосредственным втиранием осадка в поверхность среды.



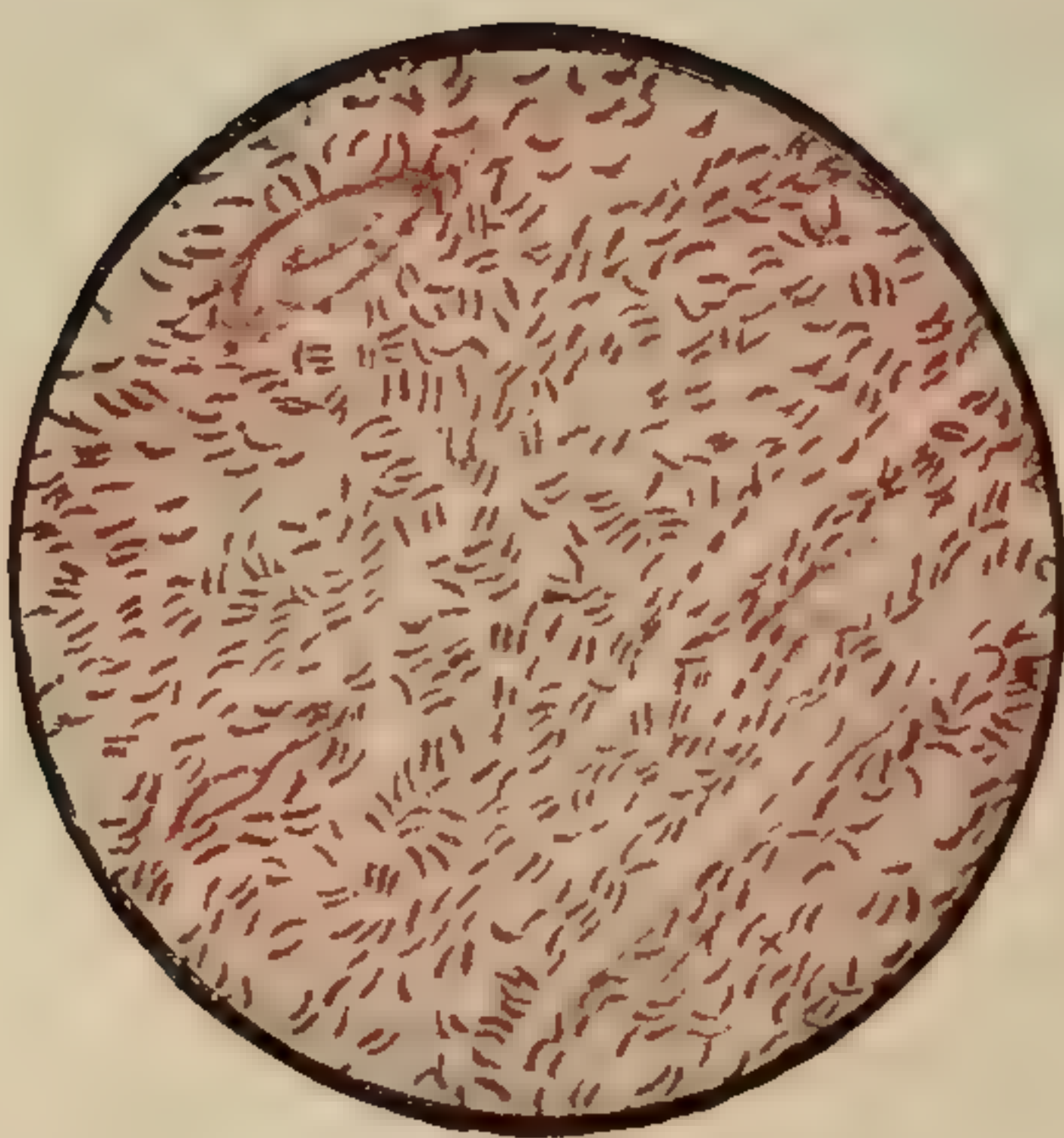


Рис. 362. Холерные вибрионы в слизи (испражнения).

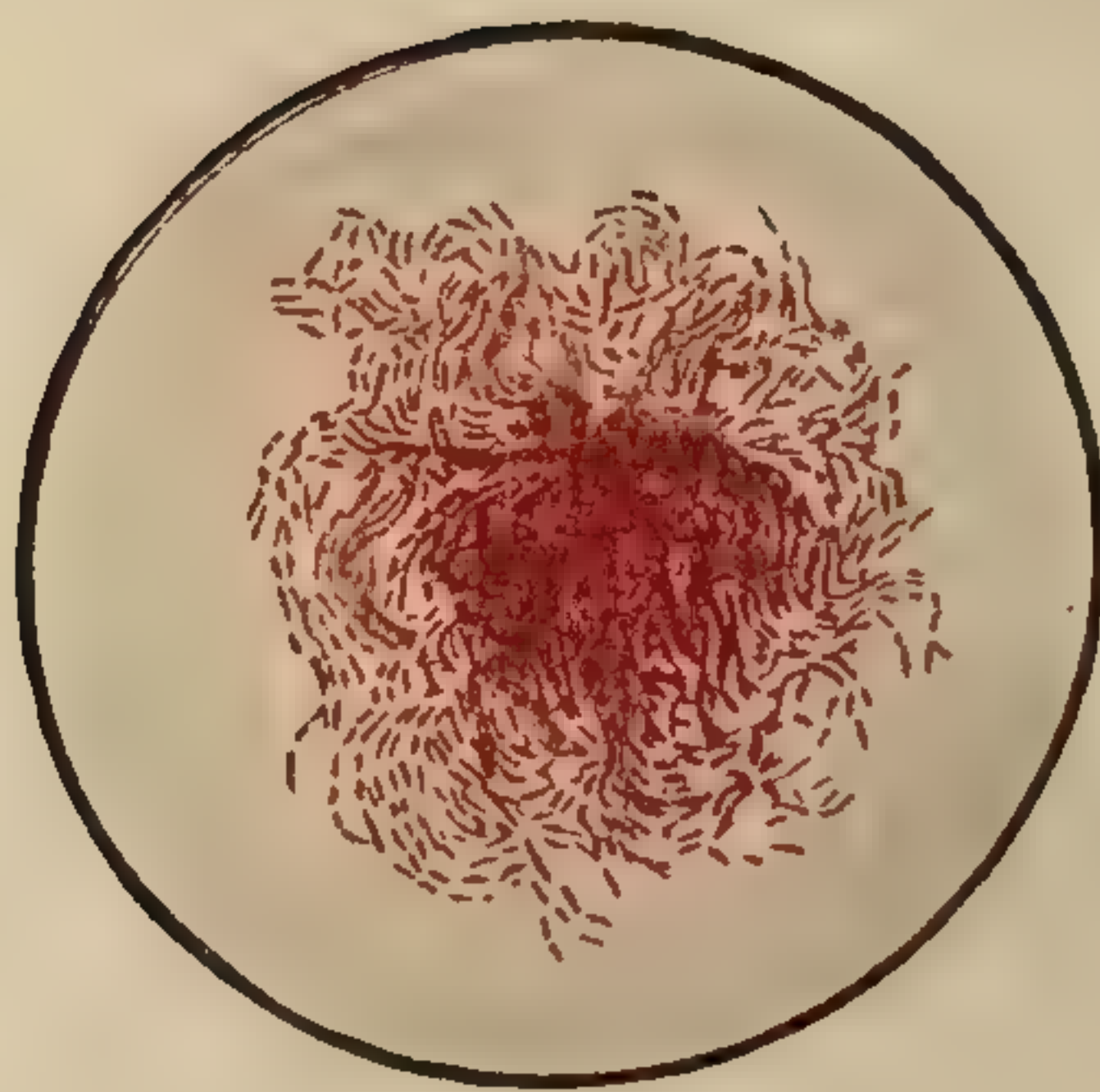


Рис. 363. Микроколония туберкулезных палочек. Окраска по Цилю-Нильсену.



## ОБНАРУЖЕНИЕ СИБИРЯЗВЕН

... (штраф) чаще всего ...  
... сибирязвенная ...  
... Сибирязвенная ...  
... самую опасную, в ...  
... инфекции. Наб ...  
... грязных, инос ...  
... розовикоз кож и т. ...  
... 40°, одышкой и каш ...  
... 2—4 дня. Очень редко вст ...

... почти никогда не диагно ...  
Собрание материала. Матери ...  
... слугат: а) гной из ...  
... испражнения.

... карбункула набира ...  
... после набора гноя ...  
... пропитать кусочек нит ...  
... пропитаться гноем. Затем ...  
... закрыть аист корков ...  
... При получении ма ...  
... бактериологическое исследов ...  
... гри сибирязвенной ...  
... может быть пенисто ...  
... стерильную бак ...  
... и высеивать на ки ...

... материал, направл ...  
... 2. Микроскопическое и ...  
... не являясь рибонее дост ...  
Бактериологическое и бак ...  
... в специальных л ...  
Из доставленного в ...  
несколько мазков-препар ...  
водным раствором мети



и докрашивают 1% водной метиленовой синькой или 1% пикриновой кислотой.

При положительном результате посева в мазках под микроскопом обнаруживают микроколонии туберкулезных палочек в виде кос и спиралей различной величины, а в пересеве на яичной среде — макрокультуры обычного вида.

**Приготовление кровяной среды.** Стерильно взятую цитратную кровь (человеческую, кроличью, баранью) непосредственно перед посевом разводят стерильной дистиллированной водой 1:2, 1:3, после чего стерильно разливают в стерильные бактериологические пробирки по 4—5 см<sup>3</sup> в каждую.

Можно пользоваться донорской кровью, которая служит для переливания, если только к ней не добавлены в качестве консерванта сульфамидные препараты. Группа крови безразлична. При сохранении стерильности кровь пригодна для выращивания туберкулезных палочек в течение нескольких месяцев. Появление гемолиза не является препятствием к ее использованию.

## ОБНАРУЖЕНИЕ СИБИРЕЯЗВЕННЫХ ПАЛОЧЕК

Сибирская язва (антракс) чаще всего поражает кожу, на которой образуется специфический сибиреязвенный карбункул. Однако она может поражать и легкие. Сибиреязвенная пневмония развивается иногда эпидемически и представляет самую опасную, в большинстве случаев смертельную форму сибиреязвенной инфекции. Наблюдается чаще всего среди лиц, занимающихся переборкой грязных, иногда зараженных тряпок (болезнь тряпичников), у сортировщиков кож и т. п. Болезнь протекает с высокой температурой (до 40°), одышкой и кашлем и обычно заканчивается летально через 2—4 дня. Очень редко встречается кишечная форма инфекции, которая почти никогда не диагностируется при жизни больного.

**1) Собираание материала.** Материалом для исследования на сибиреязвенные бактерии служат: а) гной из карбункула, б) мокрота, в) в редких случаях испражнения.

Содержимое карбункула набирают в пастеровскую пипетку, тонкий конец которой после набора гноя запаивают. Если под рукой нет пипетки, то можно прокипятить кусочек нитки, опустить ее в открытую пустулу и дать ей пропитаться гноем. Затем нитку подсушивают, помещают в пробирку, которую закрывают корковой или резиновой пробкой, и отправляют в лабораторию. При получении материала, высушенного на нитке, первичное бактериоскопическое исследование невозможно.

Мокрота при сибиреязвенной пневмонии часто имеет кровянистый характер, но может быть пенистой. Мокроту собирают в чисто вымытую, если возможно, стерильную банку, хорошо закупоривают.

Кал при подозрении на кишечную форму заболевания собирают так же, как и мокроту.

Все материалы, направляемые в лабораторию для исследования, должны быть тщательно закупорены и опечатаны.

**2) Микроскопическое исследование.** Бактериоскопическое исследование является наиболее доступным методом для клинической лаборатории. Бактериологическое и биологическое изучение материала должно проводиться в специальных лабораториях и институтах.

Из доставленного в лабораторию гноя или мокроты готовят несколько мазков-препаратов. Один из них окрашивают по Граму, второй — водным раствором метиленовой синьки, третий — по Ольту для выявления



капсул. При исследовании под микроскопом в положительных случаях обнаруживают крупные палочки (2,5—10  $\mu$  в длину) с характерными округленными концами, расположенные поодиночке или короткими цепочками. Если бациллы расположены цепочкой, то можно заметить, что концы их слегка вогнуты, отчего между ними получается просвет (рис. 364). Эти особенности наблюдаются более ясно в препаратах, окрашенных синькой. В препаратах по Граму отмечается резкая грампозитивность палочек. Наконец, нередко у сибиреязвенных бацилл, полученных непосредственно из организма, обнаруживается капсула, которая видна уже в препарате, окрашенном синькой, но наличие которой точнее устанавливается в препаратах по Ольту.

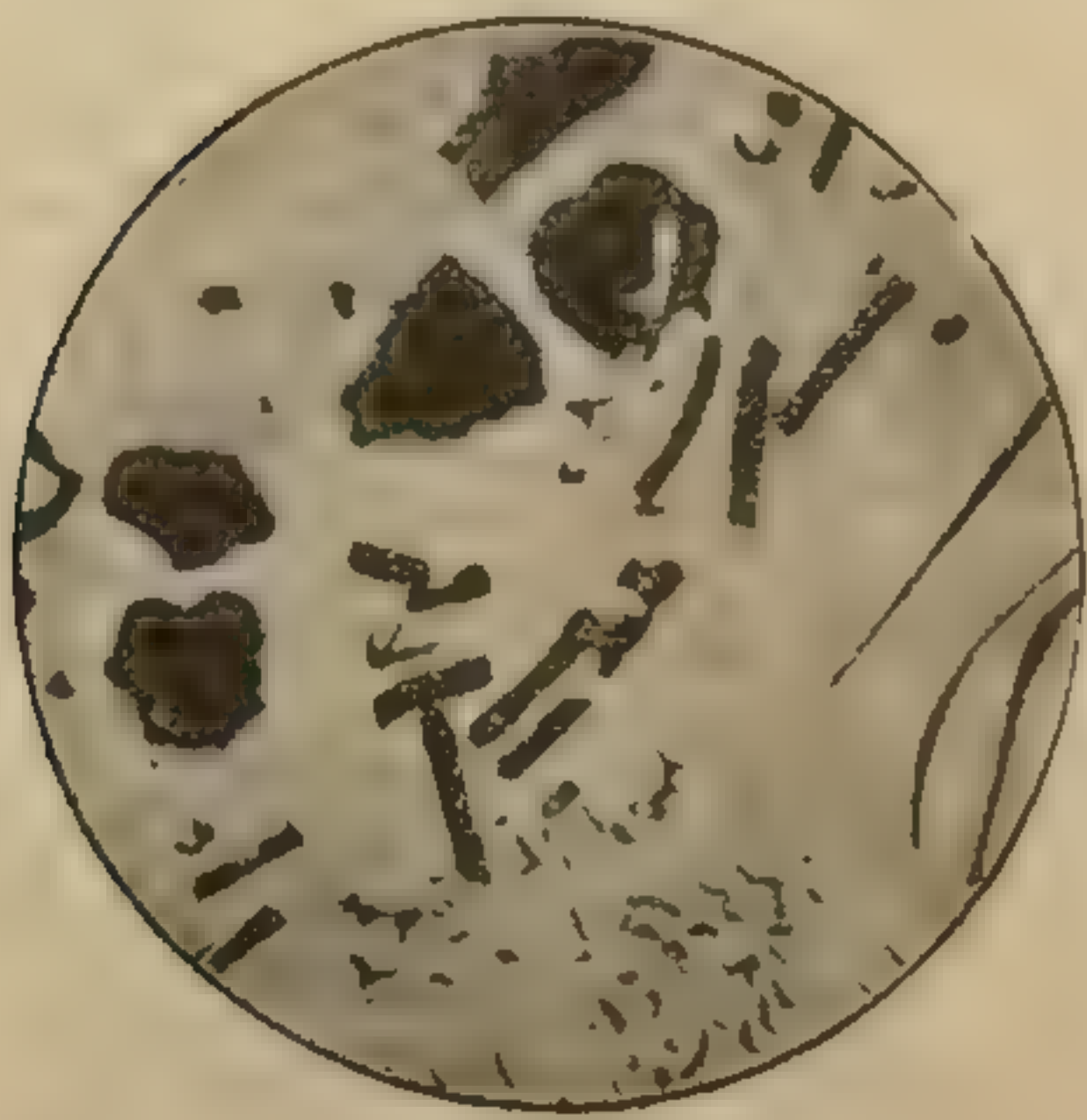


Рис. 364. Сибиреязвенные палочки, мазки из содержимого карбункула.

Характерный вид сибиреязвенных палочек и их обилие в мазке нередко позволяют поставить диагноз уже по результатам бактериоскопического исследования. В случае неясной или сомнительной бактериоскопической картины следует произвести посев на питательные среды и заражение животных. Эти исследования требуют специальных предосторожностей, ввиду высокой устойчивости спор сибиреязвенных бацилл и вследствие этого легкой возможности распространения инфекции. Поэтому для производства таких исследований должно быть выделено совершенно изолированное помещение, не связанное с другими рабочими комнатами. Уничтожение и стерилизация всех

материалов и предметов производятся в том же помещении, и вынос их запрещается.

3) **Посев на питательные среды.** Палочка сибирской язвы хорошо растет на обычных питательных средах и выделить ее нетрудно. Обычно делают посев в пробирки с бульоном и на чашки с простым агаром. Если не удастся получить чистый рост, вследствие загрязнения сопутствующими микроорганизмами, то нагревают бульонную культуру при 65—70° в течение 20 минут, чтобы убить посторонние микроорганизмы, после чего культуру пересевают на чашки с агаром.

Рост сибиреязвенных бацилл на бульоне очень характерен: бульон остается прозрачным, а на дне его лежит как бы комок ваты. На косом агаре образуется серовато-белый налет, трудно отделяемый от поверхности среды. На агаре в чашках Петри через 20—24 часа вырастают характерные колонии с волокнистым строением. Под микроскопом при слабом увеличении строение такой колонии представляется в виде переплетающихся нитей, которые по краю завиваются в сложные петли (локоны). Свернутая кровяная сыворотка под влиянием протеолитического фермента сибиреязвенной палочки медленно разжижается, как и желатина. Молоко сначала створаживается, а затем сверток казеина тоже пептонизируется и растворяется.

На кровяном агаре, в противоположность антракоидам, истинные сибиреязвенные бациллы не дают гемолиза.

4) **Заражение животных.** Часть бульонной культуры или взвеси из агаровой культуры впрыскивают под кожу белой мыши, морской свинке или кролику. В присутствии сибиреязвенных палочек животное погибает



через 12—72 часа (в зависимости от количества введенной культуры). Из селезенки или крови из сердца животного легко выделить возбудителя. В спешных случаях подозрительный материал следует непосредственно ввести животному, не дожидаясь результатов посева.

При исследовании на сибирскую язву следует иметь в виду возможность присутствия антракоидов, весьма распространенных в природе (на коже человека, в воздухе, пыли).

Дифференциальный диагноз ставится на основании ряда признаков: 1) антракоиды никогда не образуют капсул в организме; 2) они почти всегда дают в бульоне мутящий рост; 3) на кровяной чашке вызывают гемолиз; 4) антракоиды не вызывают гибели морских свинок и кроликов; некоторые из них токсичны для мышей, но не вызывают у них септицемии.

Детали исследования см. в книге «Микробиологические методы исследования при инфекционных заболеваниях» под редакцией Синая и Биргера.

### ГЛАВА ТРЕТЬЯ

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРОБОВ К ХИМИО-ТЕРАПЕВТИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ, ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ПЕНИЦИЛЛИНА В КРОВИ И МОЧЕ

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУЛЬФАМИДОУСТОЙЧИВОСТИ КУЛЬТУР, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ

Применение сульфамидов, благодетельное при многих инфекционных заболеваниях, в некоторых случаях оказывается безрезультатным, несмотря на все показания. Это явление иногда может зависеть от того, что микроб, вызвавший заболевание, нечувствителен к действию сульфамидов, или вследствие устойчивости, вообще присущей данному виду бактерий, или же вследствие устойчивости, приобретенной в результате неправильного или длительного применения препарата.

Устойчивость микробов к сульфамидам легко определить в несложном опыте. Так как существует параллелизм в устойчивости каждой культуры к различным сульфамидам, то можно пользоваться только одним из них (сульфидином или сульфазолом). При определении сульфамидоустойчивости бактерий следует употреблять только питательные среды, приготовленные на переваре Хоттингера. Пептон сам по себе обладает угнетающей способностью по отношению к сульфамидам, поэтому его присутствие в среде искажает результаты исследования.

Испытание культуры на сульфамидоустойчивость проводится в чашке Петри с агаром, к которому прибавлен сульфидин (или сульфазол).

В стерильную чашку Петри наливают агар, обычно используемый для исследуемого вида микробов (для бактерий кишечной группы — простой агар, для стрептококков — кровяной), и дают ему застыть. Из застывшего агара по диаметру чашки вырезают полоску шириной в 1 см. В образовавшуюся канавку наливают расплавленный агар, содержащий 0,4% сульфидина. Этот агар заготавливают заранее в пробирках и стерилизуют в автоклаве. Когда агар в канавке застыл, чашку Петри ставят в термостат на 3—4 часа, чтобы произошла диффузия препарата из канавки в окружающую среду.



Из 16—18-часовой бульонной культуры испытуемых микробов готовят разведения в 100, 1 000 и 10 000 раз. Когда приобретен навык в этих исследованиях и известно, какое из разведений дает наиболее четкие результаты, можно пользоваться только одним таким разведением.

Проволочной петлей культуру высевают на поверхность агара штрихами, перпендикулярными к канавке и пересекающими всю чашку от края до края (включая канавку). Затем чашку помещают в термостат при 37° на 20—24 часа.

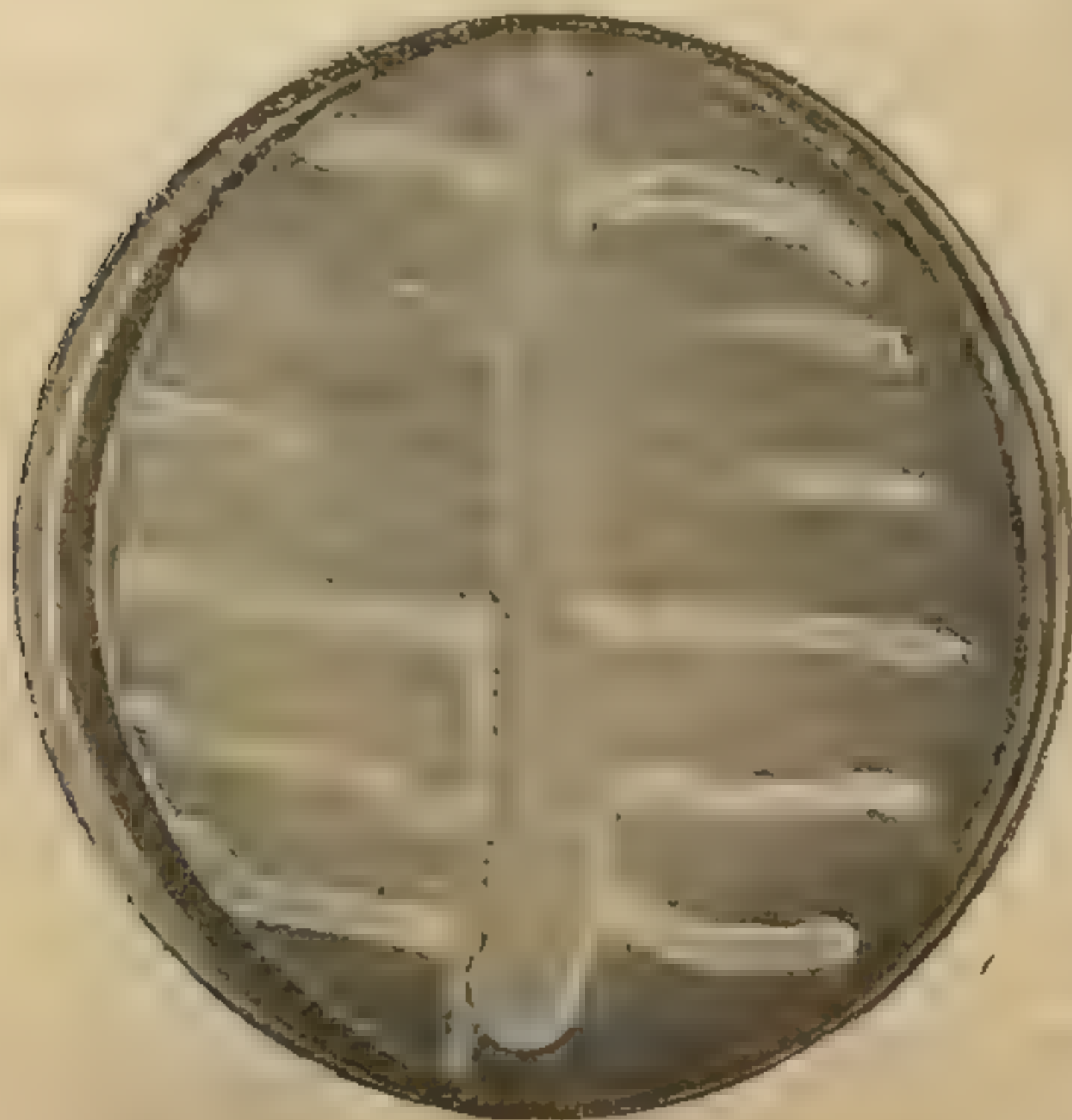


Рис. 365. Рост сульфамидоустойчивых и чувствительных микробов на чашке с канавкой.

Результаты учитываются по интенсивности роста. Устойчивые штаммы растут пышно до самой канавки и даже по ее поверхности. Рост чувствительных к сульфамидам культур задерживается или прекращается на разных расстояниях от канавки, в зависимости от степени чувствительности (рис. 365). Для некоторых видов микробов это расстояние является постоянной величиной и может быть измерено миллиметровой линейкой.

Рекомендуется вводить в каждый опыт известные чувствительные и устойчивые штаммы одноименного микроба в качестве контроля.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КУЛЬТУР К АНТИБИОТИКАМ

Возникновение устойчивости микробов к химиотерапевтическим агентам антибиотического порядка встречается достаточно часто. Вместе с тем действие антибиотиков на микробов избирательно, и часто клиницист должен быть ориентирован относительно чувствительности выделенного у больного возбудителя к применяемому средству. Ниже описываются методы испытания пенициллина, пригодные и для других антибиотиков.

1) В агаре на чашке Петри вырезают бороздку (канавку) сбоку или в середине так, как это описано для сульфонамидов, и заполняют ее агаром, смешанным с пенициллином (5 МЕ и меньше); под прямым углом к канавке делают ряд штриховых посевов испытуемых бактерий. На одной чашке можно испытать несколько культур. Чашку с посевом ставят в термостат и на следующий день определяют степень чувствительности по расстоянию от канавки, на котором начинается рост микробов. Полезно на той же чашке штрихом посеять стандартный штамм стафилококка или другой чувствительный к пенициллину микроб.

2) Чашечный метод<sup>1</sup>. Агар в чашке Петри засеивается испытуемым микробом. При помощи прокаленного сверла для пробок в агаре вырезают несколько дисков, в которые наливают 1—2 капли расплавленного и остуженного до 45° агара. Затем в получившиеся чашечки помещают различные разведения антибиотика (10 МЕ, 1 МЕ и меньше), ориентируясь на те концентрации, которые возможны при его применении у человека. При изучении фитонцидов в чашечки кладут кашицу из лука

<sup>1</sup> Детали методики см. Ермольева, «Пенициллин», Медгиз, 1946, Африкан, «Пенициллин и его применение в медицине», Ереван, 1948.



чеснока и т. д. Чашки Петри ставят в термостат на 20—24 часа. Степень чувствительности испытуемого микроба к антибиотику определяется или по ширине зоны задержки роста, выражаемой в миллиметрах, или по концентрации вещества в том последнем разведении, которое еще в состоянии задерживать рост исследуемых бактерий.

Можно взамен луночек накладывать на засеянный агар в чашке Петри кружки стерильной плотной фильтровальной бумаги, смоченные в растворах антибиотика.

Точное количественное определение чувствительности микроба к антибиотику проводится в пробирках при помощи серийного разведения, как описано ниже для определения чувствительности стандартного штамма стафилококка (см. стр. 722).

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ПЕНИЦИЛЛИНА В КРОВИ И МОЧЕ

Широкое применение пенициллина ставит перед лабораториями задачу определения концентрации пенициллина в крови больного и скорость его выделения с мочой. Так как обе эти величины сопряженные, то рационально оба исследования проводить одновременно. Вместе с тем необходимость поддерживать в крови больного достаточно высокую концентрацию пенициллина в течение длительного периода требует многократного и регулярного повторения исследования для постоянной ориентации.

Присутствие и концентрация пенициллина определяются по его задерживающему действию на рост определенного микроба. Таким микробом является стафилококк; при этом следует пользоваться стандартным, специально изученным штаммом, который выписывается из института антибиотиков.

Все исследование проводится в пробирках с обычным питательным бульоном, разлитым по 1 и 10 см<sup>3</sup>. За 2 часа до опыта следует приготовить взвесь культуры стафилококка: 0,1 см<sup>3</sup> суточной бульонной культуры вносят в 10 см<sup>3</sup> бульона и ставят в термостат при 37° на 2 часа.

1) **Исследование крови.** Кровь, как обычно, берут из вены в стерильных условиях в количествах 5—10 см<sup>3</sup> через 15, 30 минут, 1, 1½ и 2 часа после введения пенициллина. Дают крови свернуться, отстаются и стерильно отсасывают сыворотку в стерильную пробирку. Сыворотка не должна содержать примеси эритроцитов. Для опыта требуется 2 см<sup>3</sup> сыворотки.

В штативе устанавливают 9 стерильных пробирок для каждой пробы крови. Первая пробирка не содержит ничего, в остальных находится по 1 см<sup>3</sup> бульона. В первую и вторую пробирки наливают по 1 см<sup>3</sup> исследуемой сыворотки. Из 2-й пробирки после перемешивания переносят 1 см<sup>3</sup> в 3-ю, из 3-й в 4-ю и т. д. Из 8-й пробирки 1 см<sup>3</sup> жидкости выливают. В каждую пробирку вносят по 1 капле взвеси стафилококков, приготовленной, как указано выше.

Штатив ставят в термостат при 37° на 18—20 часов. Для расчета принимается разведение сыворотки в последней абсолютно прозрачной пробирке (табл. 64).

2) **Исследование мочи.** Моча должна быть собрана по возможности стерильно в стерильную посуду. Первую порцию забирают до очередного введения пенициллина, последующие — через 2, 3 и 4 часа после него.

Так как концентрация пенициллина в моче значительно выше, чем в крови, готовится исходное разведение 1:100, т. е. 9,9 см<sup>3</sup> бульона + 0,1 см<sup>3</sup> мочи. Это исходное разведение наливают по 1 см<sup>3</sup> в первую



Схема разведения сыворотки

Таблица 64

№ пробирки	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Сыворотка больного в см <sup>3</sup> . . . . .	1	1 →	1 →	1 →	1 →	1 →	1 →	1	0
Бульон в см <sup>3</sup> . . . . .	0	1	1	1	1	1	1	1	1
Конечное разведение . . .	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	Контроль
Культура в каплях . . .	1	1	1	1	1	1	1	1	1

и вторую пробирку ряда. Для мочи в штатив устанавливают ряд из 10—12 пробирок. Дальше поступают, как описано выше для сыворотки крови.

**Расчет.** За единицу действия пенициллина принимается наименьшее количество стандартного пенициллина, растворенного в 50 см<sup>3</sup> бульона, которое в состоянии задержать рост золотистого стафилококка. Эта единица активности пенициллина называется международной единицей (МЕ). 1 см<sup>3</sup> этого раствора содержит  $\frac{1}{50}$  или 0,02 МЕ. Если 1 см<sup>3</sup> любого субстрата задерживает рост стафилококка при разведении 1:50, то он содержит 1 МЕ; если же роста нет до пробирки с разведением 1:8, то материал содержит  $\frac{8}{50}$  МЕ, или  $8 \times 0,02 = 0,16$  МЕ. Согласно этому расчету, учитываются результаты исследования содержания пенициллина в крови и моче.

**Примерные результаты опыта.** Сыворотка крови больного задержала рост стандартного штамма стафилококка:

Через 15 минут после инъекции в разведении 1:16  
 » 30 » » » » 1:8  
 » 1 час » » » » 1:4  
 » 1 1/2 часа » » » » 1:1  
 » 2 » » задержки роста нет ни в одной пробирке

Расчет дает соответственно:

Через 15 минут  $16 \times 0,02 = 0,32$  МЕ  
 » 30 »  $8 \times 0,02 = 0,16$  »  
 » 1 час  $4 \times 0,02 = 0,08$  »  
 » 1 1/2 часа  $1 \times 0,02 = 0,02$  »  
 » 2 часа пенициллин не обнаружен

**3) Определение чувствительности стандартного штамма стафилококка к пенициллину.** Одновременно с постановкой опыта по определению концентрации пенициллина в крови и моче больных необходимо в тот же день и в тех же условиях определить степень чувствительности стандартного штамма стафилококка к пенициллину, использованному для лечения. Результаты этого опыта дают также представление об активности данной серии пенициллина. Опыт проводится, как было описано выше при определении концентрации пенициллина в крови и моче. Однако разведения пенициллина производятся по другому принципу: приняв за исходное содержание количество международных единиц, указанное на этикетке, доходят рядом последовательных разведений до концентрации 1 МЕ в 1 см<sup>3</sup>, которая является наибольшей в ряду. Дальнейшими разведениями этого раствора доводят концентрацию пенициллина до 0,002 — 0,0005 МЕ в 1 см<sup>3</sup>.

Примерная схема разведения пенициллина. Предположим, что основной раствор пенициллина, который введен больному, содержит 20 000 МЕ в 1 см<sup>3</sup>. Тогда первое разведение готовится следующим



образом: в 10 см<sup>3</sup> бульона прибавляют 0,1 см<sup>3</sup> основного раствора (2 000 МЕ), получается 200 МЕ в 1 см<sup>3</sup>; второе разведение: в 10 см<sup>3</sup> бульона приливают 0,1 см<sup>3</sup> из первого разведения, получается 2 МЕ в 1 см<sup>3</sup>. Из этого разведения 1 см<sup>3</sup> наливают в первую пробирку ряда, затем переносят 1 см<sup>3</sup> во вторую пробирку, из второй — 1 см<sup>3</sup> в третью и т. д.; из последней пробирки 1 см<sup>3</sup> выливают (табл. 65).

Таблица 65

№ пробирки	1	2	3	4	5	6
Раствор пенициллина в бульоне . . . . .	1 см <sup>3</sup> из второго исходного	1 см <sup>3</sup> из предыдущей				
Бульон в см <sup>3</sup> . . . . .	1	1	1	1	1	1 и т. д.
Концентрация пенициллина в МЕ . . . . .	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03
Разведения . . . . .	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32

Во все пробирки добавляют по одной капле взвеси стафилококка, приготовленной, как описано выше. Опыт выдерживают в термостате до следующего дня. Отмечают последнюю прозрачную пробирку. При нормальной активности пенициллина последней пробиркой, в которой нет роста, является 7-я, т. е. 0,02 МЕ. Но обычно препарат выпускается с резервом активности в расчете на возможные потери при хранении; поэтому часто рост задерживается до 8—9-й пробирки. Если же рост задержан только до 4—5-й пробирки, то препарат малоактивен.

### МИКРОМЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЕНИЦИЛЛИНА В ЖИДКОСТЯХ ОРГАНИЗМА<sup>1</sup>

Метод, предложенный Флемингом и видоизмененный Филдингом, основан на ферментации глюкозы при росте микроба в жидкой питательной среде с добавлением сыворотки и индикатора. Образующаяся при этом кислота вызывает свертывание сыворотки и изменение цвета индикатора. Метод позволяет пользоваться небольшими количествами испытуемой жидкости и достаточно точен для клинических целей.

Питательная среда состоит из 1 части стерильной лошадиной сыворотки (можно человеческой, кроличьей), 3 частей дистиллированной воды, 2% глюкозы и 1% индикатора Андредра. Среду разлить по пробиркам и стерилизовать текучим паром 30 минут. После стерилизации среда должна быть совершенно прозрачной. Помутнение питательной среды обычно обусловливается ее первоначальной кислой реакцией и его можно избежать, если довести pH сыворотки перед прибавлением до 8,0.

Питательную среду засевают 16-часовой бульонной культурой тест-стафилококка из расчета 0,1 см<sup>3</sup> на 1 см<sup>3</sup> среды и хорошо смешивают.

В ряд часовых стекол микропипеткой вносят по 0,1 см<sup>3</sup> только что засеянной питательной среды. Первую каплю смешивают с равным объемом сыворотки крови больного или другой испытуемой жидкости и затем делают ряд последовательных разведений путем переноса 0,1 см<sup>3</sup> жидкости из первого часового стекла во второе, из второго в третье и т. д. К по-

<sup>1</sup> Метод испытан и апробирован во Всесоюзном научно-исследовательском химико-фармацевтическом институте.



следней капле ничего не добавляют, и она служит контролем. Таким путем получают разведения испытуемой жидкости 1:2, 1:4, 1:8 и т. д. Эти разведения соответствуют 0,04; 0,08; 0,16 и т. д. единиц пенициллина для исходной жидкости.

Из всех часовых стекол, содержащих смеси, и из контрольной набирают в капилляры по 0,1 см<sup>3</sup> жидкости, т. е. все содержимое. Запаявают концы капилляров на пламени и помещают их в термостат (37°) на ночь в горизонтальном положении. При наличии роста стафилококка в капилляре видна свернувшаяся сыворотка, окрашенная в розовый цвет; при отсутствии роста жидкость остается прозрачной и бесцветной.

Капилляры должны иметь просвет около 1 мм для того, чтобы столбик жидкости в них равнялся 2—3 см. При слишком высоком столбике жидкости рост в средней части его замедляется.

**Модификация Ермольевой и Ведьминой.** Эта модификация основана на том же принципе, что и предыдущая методика.

Расставляют в штативе 2 ряда стерильных маленьких (агглютинационных) пробирок, по 10 пробирок в каждом ряду. В пробирки обоих рядов наливают по 0,2 см<sup>3</sup> питательной среды, засеянной тест-стафилококком (пропись см. ниже).

В первую пробирку первого ряда прибавляют 0,2 см<sup>3</sup> испытуемой жидкости, перемешивают, переливают 0,2 см<sup>3</sup> во вторую пробирку и так до предпоследней, откуда 0,2 см<sup>3</sup> выливают. В последнюю пробирку не наливают испытуемой жидкости, оставляя ее в качестве контрольной. Получаются разведения 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 и т. д.

В пробирки второго ряда таким же образом разливают разведения стандартного раствора пенициллина (приготовление см. ниже), который содержит 1 единицу в 1 см<sup>3</sup>. Получается в первой пробирке 0,1 единицы пенициллина в объеме жидкости, равном 0,2 см<sup>3</sup>. В пересчете на 1 см<sup>3</sup> получается 0,5 единицы пенициллина, а в последующих — соответственно 0,25; 0,125; 0,062; 0,031; 0,015; 0,075; 0,0037; 0,0018. Штатив помещают в термостат при 37° на 16—18 часов, после чего читают результаты.

Учитывается последняя пробирка, в которой не изменился цвет жидкости, т. е. еще наблюдается задержка роста стафилококка.

Расчет производится умножением последнего разведения испытуемой жидкости, которое задерживает рост, на такое же наименьшее разведение стандартного пенициллина. Например, последнее разведение испытуемой жидкости, при котором среда осталась без изменения, равно 1:32, а наименьшее количество пенициллина, задерживающее рост, равно 0,015 единицы. Следовательно,  $32 \times 0,015 = 0,48$  единицы пенициллина содержится в 1 см<sup>3</sup> испытуемой жидкости.

**Приготовление питательной среды.** В стерильную колбу или широкую пробирку отмеривают стерильной пипеткой 6 см<sup>3</sup> дистиллированной воды (стерильной), 2 см<sup>3</sup> кровяной сыворотки (любого происхождения) и 2 см<sup>3</sup> 10% раствора глюкозы. Добавляют 0,25 см<sup>3</sup> насыщенного раствора фенолрота: 5,7 см<sup>3</sup> 1/20 N раствора NaOH + 0,1 г фенолрота + 50 см<sup>3</sup> стерильной дистиллированной воды. Среду кипятят 1—2 минуты, охлаждают и перед опытом засевают 24-часовой бульонной культурой стафилококка из расчета 1 петля (1 мм<sup>3</sup>) на 1 см<sup>3</sup> среды.

**Приготовление стандартного раствора пенициллина.** Стандартный раствор готовится с таким расчетом, чтобы в 1 см<sup>3</sup> содержалась 1 единица пенициллина. Разводят пенициллин в стерильной дистиллированной воде или стерильном буферном растворе сначала в 10 см<sup>3</sup>, а затем в таком количестве той же жидкости, чтобы получить нужную концентрацию (1 единица в 1 см<sup>3</sup>).



## СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

В дополнение к бактериологическим методам серологические исследования представляют немаловажную часть лабораторной диагностики инфекционных болезней. В основе серологических реакций лежит взаимодействие между антигеном и антителом, которое, в зависимости от физического состояния антигена, выражается в различной форме: то в виде склеивания бактериальных тел в реакции агглютинации, то в виде выпадения преципитата в реакции преципитации и т. д. Во всех случаях серологического исследования оно специфично и позволяет определить по одному известному компоненту второй неизвестный, если они вступили в реакцию и дали результат, учитываемый глазом.

Выше, при описании идентификации различных микробов, были приведены случаи, когда неизвестный микроб определяется в реакции с заведомой сывороткой. В серологических реакциях, употребляемых для диагностики инфекционных заболеваний, соотношения обратны. Здесь применяются заведомо известные антигены, а сыворотка является тем неизвестным, которое определяется по содержащимся в ней антителам.

Наиболее употребительным методом серологической диагностики является реакция агглютинации. В применении к брюшному тифу и паратифам она носит название реакции Видаля, при сыпном тифе — реакции Вейль-Феликса, при бруцеллезе — реакции Райта.

### ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ К ТЕХНИКЕ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

1) **Посуда.** Для серологических реакций, используемых с целью диагностики инфекционных заболеваний, употребляются пробирки разных размеров: 1) обычные бактериологические пробирки, служащие для основных разведений ингредиентов реакции; 2) небольшие пробирки для реакции агглютинации длиной 90 мм с внутренним диаметром 9—10 мм (так называемые вассермановские), для реакции преципитации — длиной 90 мм, диаметром 3—5 мм (так называемые преципитационные); 3) пипетки градуированные объемом 10 и 5 см<sup>3</sup> с делениями на 0,1 и объемом 1 см<sup>3</sup> с делениями на 0,01; желательно, чтобы деления в пипетках доходили до их конца, т. е. чтобы не было мертвого, неградуированного пространства перед оттянутым кончиком; 4) пастеровские пипетки, просвет которых не имеет значения для реакции агглютинации; для реакции же преципитации они должны быть тонко оттянуты, чтобы входили в узкие пробирки и ток жидкости не был быстрым.

Посуда должна быть абсолютно чистая, лучше стерильная.

2) **Аппаратура.** Пробирки устанавливаются в штативы: для больших пробирок достаточно одного двухрядного штатива; для постановки реакции агглютинации употребляются трех- и четырехрядные штативы по 10 гнезд в ряду; для реакции преципитации нужны узкие однорядные штативы на 10 гнезд. Гнезда должны соответствовать размерам пробирок.

Для создания необходимого температурного режима необходим термостат на 37° или водяная баня, в которой можно по желанию поддерживать температуру в 37° или 55°. Баня должна быть четырехугольная; размеры подбирают в зависимости от объема работы. В специальных водяных банях для серологических реакций электрообогрев регулируется автоматически; штативы в ней подвешиваются на крючках.



Для более тщательного просмотра результатов реакции употребляется агглютиноскоп (рис. 366). В агглютиноскопе на ножках укреплены две трубки, сходящиеся под углом (около  $170^\circ$ ). На месте схождения трубок в верхней части укреплен окуляр, а в нижней — находится узкая щель, затененная небольшим экраном. На стержне, опускающемся от трубки вниз, укреплено зеркальце. Луч света, отклоняемый зеркалом, проходит в щель и освещает дно пробирок, вставляемых в обе трубки. Таким образом, жидкость на дне пробирок рассматривается через окуляр, будучи освещена узким лучом света. Малейшая зернистость при таком освещении хорошо видна. Окуляр укреплен винтом, освободив который, можно поднять или опустить окуляр и установить его по зрению.

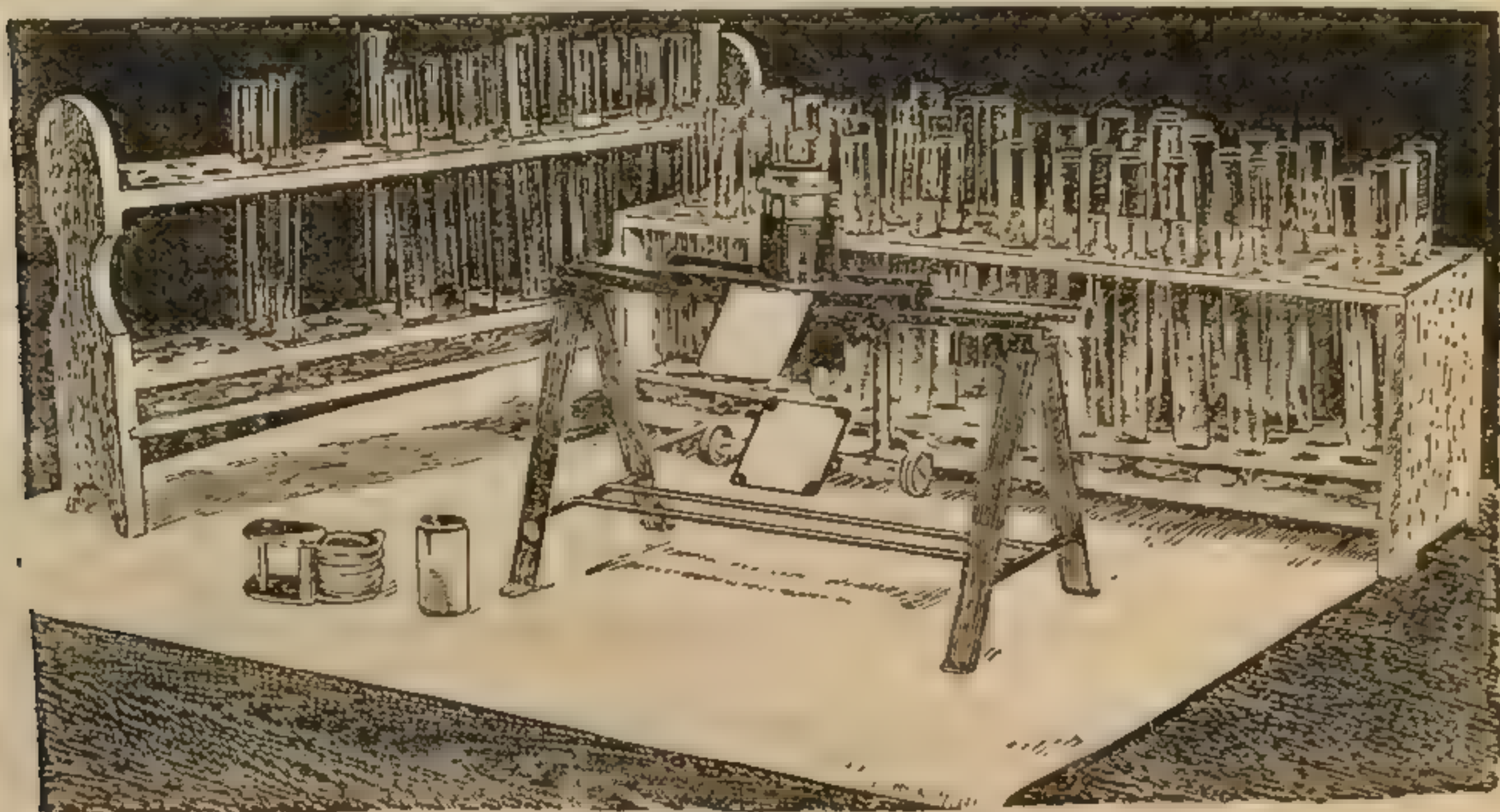


Рис. 366. Агглютиноскоп.

**3) Ингредиенты.** Для производства серологической реакции нужны: 1) сыворотка больного; 2) антигены: а) для реакции агглютинации — взвеси убитых культур, так называемые диагностикумы, или суточные агаровые живые культуры; б) для реакции преципитации — растворы полных антигенов; 3) физиологический раствор поваренной соли (0,85%).

Кровь больного в количестве 2—3 см<sup>3</sup> берут из локтевой вены, если одновременно нужно исследовать кровь на посев, или обычно уколom мякоти пальца иглой Франка, или надрезом треугольного пера, которое применяется для оспопрививания.

Кровь собирают в центрифужную пробирку, дают ей свернуться (лучше в термостате) и отстояться сыворотке (иногда необходимо центрифугировать). Хорошо отстоявшуюся сыворотку отсасывают пастеровской пипеткой в другую стерильную пробирку.

Для реакции агглютинации можно пользоваться суспензией живых или же убитых (диагностикум) микробов.

Живые культуры должны удовлетворять определенным требованиям и быть проверены биохимически и серологически.

Штаммы должны вести себя типично культурально и серологически; они должны иметь все свойства гладких вариантов и обладать развитыми антигенами, как жгутиковыми (H), так и соматическими (O).

Шероховатые штаммы, дающие спонтанную агглютинацию, не могут быть использованы при постановке реакции агглютинации.



Наличие гладкой фазы культуры определяется после посева ее на чашки с толстым слоем обычного слабо щелочного агара. Посев должен стоять одни сутки в термостате. Колонии должны быть гладкие, блестящие по поверхности и ровные по краям. Взвесь гладких вариантов микробов в гипертоническом растворе поваренной соли (6,4%) не должна давать спонтанной агглютинации после двухчасового стояния в термостате.

Кроме того, штаммы должны быть проверены на чувствительность к специфическим кроличьим сывороткам (должны агглютинироваться до титра или почти до титра).

Рабочие культуры подвергаются проверке не реже одного раза в месяц.

Взвесь живых микробов получают, налив в пробирку с суточной агаровой культурой 2—3 см<sup>3</sup> физиологического раствора и смыв им культуры основательным встряхиванием. Эмульсия должна быть гомогенной и иметь густоту, примерно равную 2 млрд. по оптическому стандарту. Если при смывании во взвесь попали кусочки агара или комочки из бактерий, то ее надо профильтровать через тонкий кусочек стерильной ваты, положенной в воронку.

Пользование диагностикумами, т. е. готовыми взвесями убитых микробов, освобождает от кропотливой работы с поддержанием живых культур в соответствующем состоянии. Кроме того, диагностикумы обеспечивают унификацию результатов. Однако следует иметь в виду, что реакция агглютинации с диагностикумом менее чувствительна, чем с живой культурой, положительный результат получается ниже на 1—2 разведения сыворотки. Хлопья, которые выпадают при пользовании диагностикумами, нежны и легко распадаются; поэтому при постановке реакции с ними нельзя сильно встряхивать пробирки. Такие антигены хранятся впрок и проверяются один раз в полгода соответствующими агглютинирующими сыворотками, так как они со временем становятся менее чувствительными.

Для реакции преципитации пользуются экстрактами из микробных тел, приготовленными различными способами<sup>1</sup>, или раствором готового полного антигена бактерий, который приобретает в институтах микробиологии и хранится в виде сухого порошка. Полный антиген разводится в 1 000 раз: 1 мг антигена в 1 см<sup>3</sup> физиологического раствора. Можно поставить реакцию с несколькими разведениями антигена. Для этого исходный раствор разводят в 2, 4, 8 раз, что соответствует разведениям 1:2 000, 1:4 000, 1:8 000.

**4) Постановка реакции.** а) Реакция агглютинации. Из полученной сыворотки больного готовят исходное разведение 1:10, для чего в пробирку наливают 0,9 см<sup>3</sup> физиологического раствора и 0,1 см<sup>3</sup> исследуемой сыворотки.

В штативе расставляют ряд пробирок соответственно количеству разведений сыворотки. В первую пробирку наливают 1,6 см<sup>3</sup> физиологического раствора, в остальные — по 1 см<sup>3</sup>. Физиологический раствор разливают градуированной пипеткой на 5 или 10 см<sup>3</sup>. В первую пробирку ряда пипеткой на 1 см<sup>3</sup> добавляют 0,4 см<sup>3</sup> сыворотки из исходного разведения 1:10, хорошо перемешивают и 1 см<sup>3</sup> переливают во вторую пробирку; таким же образом переносят из второй в третью и т. д.; получают разведения 1:50, 1:100 и т. д. Из пробирки с последним разведением выливают 1 см<sup>3</sup> жидкости, а в одну пробирку (последнюю) не добавляют разведения сыворотки, так как она служит контролем культуры. Обычно

<sup>1</sup> См. приготовление солянокислого экстракта из стрептококков (стр. 676) или уксуснокислого гаптена (стр. 703).



ставят реакцию агглютинации в разведениях сыворотки от 1:50 до 1:400 или от 1:100 до 1:800. Таким образом, в ряду должно быть 5 пробирок (на каждую культуру).

Кроме объемного метода, можно поставить реакцию капельным способом. При наличии 5 капель сыворотки можно поставить реакцию с 5 культурами. При этом готовится основное разведение сыворотки 1:10 (5 капель сыворотки + 45 капель физиологического раствора). Дальнейшие разведения см. в табл. 66.

Таблица 66

№ пробирки	1	2	3	4	5
Основное разведение сыворотки (в каплях) . . . . .	4	2	1	1	—
Физиологический раствор (в каплях)	16	18	19	39	20
Полученное разведение сыворотки	1:50	1:100	1:200	1:400	Контроль

После разведения сыворотки можно удалить 20 капель из 4-й пробирки. Капельные разведения, кроме основного, готовятся непосредственно в агглютинационных пробирках. Физиологический раствор разливают первым.

Если имеется только одна капля сыворотки, то можно поставить реакцию, начиная с разведения сыворотки 1:100, с 4 культурами следующим образом.

Основное разведение: 1 капля сыворотки + 49 капель физиологического раствора, получается разведение сыворотки 1:50 (а).

В 4 пробирки разливают по 0,5 см<sup>3</sup> физиологического раствора. В первую пробирку добавляют 0,5 см<sup>3</sup> основного разведения сыворотки (а), получается 1 см<sup>3</sup> разведения сыворотки 1:100 (обозначим его через б), затем 0,5 см<sup>3</sup> этого нового разведения (б) переносят во вторую пробирку, где получается разведение 1:200 (обозначенное через в). Из нее переносят 0,5 см<sup>3</sup> в третью пробирку, где получается разведение 1:400. Из этой пробирки 0,5 см<sup>3</sup> удаляют; четвертая пробирка без сыворотки — контрольная (табл. 67).

Таблица 67

№ пробирки	1	2	3	4
Разведения сыворотки в см <sup>3</sup> . . . . .	0,5 (а)	0,5 (б)	0,5 (в)	—
Физиологический раствор в см <sup>3</sup>	0,5	0,5	0,5	0,5
Получаемое разведение . . . . .	1:100 (б)	1:200 (в)	1:400	Контроль

На пробирках надписывают соответствующие разведения сыворотки.

После того как разведения сыворотки приготовлены и разлиты по пробиркам, согласно той или иной схеме, в каждую пробирку приливают по 1—2 капли бактериальной взвеси. В каждый ряд последовательных разведений добавляют взвесь одной культуры, причем обозначение штамма ставится обычно на первой пробирке.

При постановке реакции агглютинации необходимо ставить два контроля: 1) в пробирку наливают 0,5 см<sup>3</sup> наименьшего разведения сыворотки (1:10—1:50) для выявления, не дает ли сыворотка сама по себе хлопкования (контроль сыворотки); 2) в пробирку наливают 0,5 мл физио-



логического раствора и одну каплю взвеси микробов или диагностикума для проверки, не дает ли сама культура спонтанной агглютинации (контроль культуры).

Пробирки встряхивают и штативы с опытом и контролями ставят в термостат или водяную баню. Жгутиковая (H) (стр. 685) агглютинация наступает быстро и может быть учтена уже через 2 часа стояния в термостате: вообще же реакция просматривается и регистрируется на следующий день. Для чтения реакции применяют агглютиноскоп или лупу с увеличением в 6 раз. В случае положительной реакции в пробирках происходит просветление и выпадение осадка в виде хлопьев (H-агглютинация) или в виде зерен (O-агглютинация), или то и другое вместе. Осадок при положительном результате располагается по всему дну пробирки тонким слоем (зонтиком).

При чтении важно не встряхивать пробирки очень сильно, так как H-агглютинация легко разбивается и переходит в равномерную муть. Поэтому при просмотре рекомендуется наблюдать характер осадка путем наклона пробирки. В случае отрицательной реакции в пробирке наблюдается равномерная муть, такая же, как и в контрольной, где сыворотки вообще не было; осадок в такой пробирке лежит на дне плотным комочком (рис. 367).

Последнее разведение сыворотки, в котором еще наблюдается агглютинация, считается титром данной сыворотки. Если в контрольной пробирке есть агглютинация, то это указывает на то, что штамм перешел в шероховатую форму и для реакции непригоден. При применении диагностикумов иногда в контроле видны хлопья или комки; такой диагностикум также не должен применяться.

б) Реакция преципитации ставится в двух модификациях: смешиванием сыворотки и антигена и насливанием.

При смешивании сыворотки и антигена обычно применяют равные количества. Сыворотку разводят в 2—4—8—16 и т. д. раз; антиген тоже разводится соответственно его природе. К 0,2 см<sup>3</sup> разведенной сыворотки приливают 0,2 см<sup>3</sup> разведенного антигена, встряхивают, помещают в термостат на 2 часа, а затем оставляют пробирки при комнатной температуре до следующего утра. Реакцию прочитывают простым глазом или с лупой. В случае положительного результата в прозрачной жидкости выпадают хлопья, которые собираются на дне пробирки в виде рыхлого осадка.

При реакции преципитации резко выражен феномен зональности, т. е. существуют оптимальные соотношения антигена и антитела, которые не зависят от степени разведения. Поэтому для каждого антигена и его антитела нужно вытитровать эти соотношения, что значительно усложняет постановку реакции. Реакция кольцепреципитации, которая осуществляется насливанием антигена на сыворотку, свободна от феномена зональности.

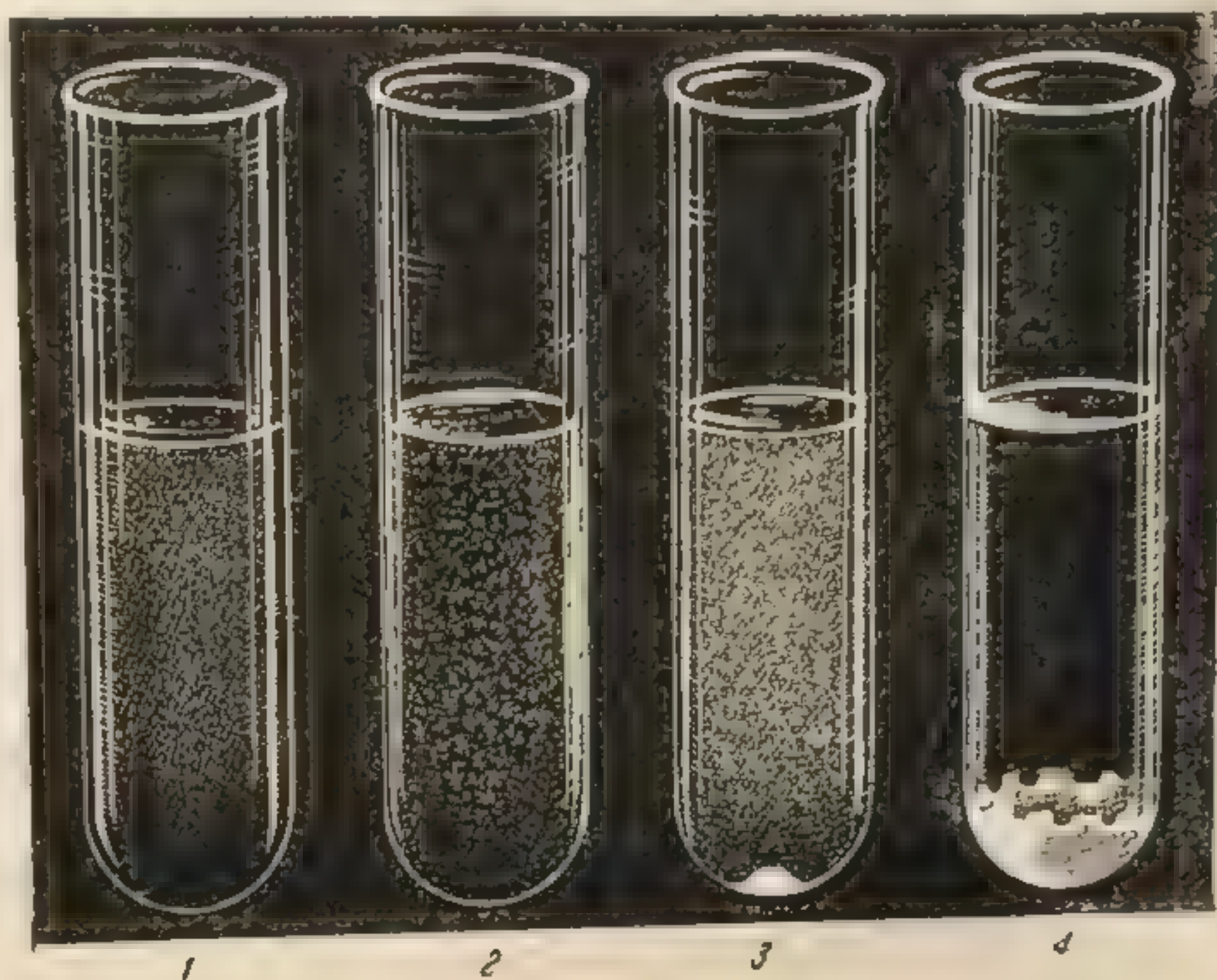


Рис. 367. Реакция агглютинации макроскопически. В 1 и 2 пробирках — зернистая агглютинация, в 3 — отрицательный результат, в 4 — положительный.



так как в этом случае необходимые оптимальные концентрации создаются на месте соприкосновения двух жидкостей.

Для определения титра сыворотки больного в реакции кольцепреципитации употребляют последовательные разведения не сыворотки, а антигена. Сыворотку берут цельную или разводят пополам физиологическим раствором.

Если в реакции используется в качестве антигена полный антиген, то он разводится 1:1 000, 1:2 000, 1:4 000 и т. д. Если же антигеном является экстракт из микробных тел, то применяются его разведения 1:2, 1:4 и т. д.

Обычно наслаивают антиген на сыворотку, но если антиген имеет более высокий удельный вес, то можно применить обратный порядок или же сыворотку развести пополам нейтральным глицерином.

В узенькую пробирку тонкой пастеровской пипеткой, не смачивая стенок, наливают 0,1—0,2 см<sup>3</sup> сыворотки; затем тонкой же пипеткой по стенке осторожно приливают антиген примерно в том же количестве. Между двумя жидкостями должна быть отчетливо видна граница. При положительном результате реакции в этом месте появляется плотное белое кольцо, толщина которого зависит от количества антител в сыворотке. Кольцо появляется в течение 1/2—1 часа при комнатной температуре. Наблюдение за реакцией продолжается в течение 2 часов.

## СЕРОДИАГНОСТИКА ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

1) Реакция Видаля и ее оценка. Агглютинины у больных брюшным тифом или паратифом появляются в крови уже к 4-му дню болезни и резко нарастают к 8—10-му дню после начала заболевания. Количество их еще увеличивается на 2—3-й неделе заболевания и достигает высшей точки своего развития к концу болезни или к началу выздоровления. В первые месяцы после выздоровления исследование может служить и для целей ретроспективного диагноза.

Как было указано в главе об обнаружении тифозных и паратифозных микробов, они обладают сложной антигенной структурой. В ответ на антигенный комплекс бактерий в организме больного возникают агглютинины, соответствующие разным фракциям комплекса. Хотя Н- и О-агглютинины возникают одновременно, но они не всегда одновременно улавливаются в достаточных титрах. Поэтому в реакцию Видаля следует вводить культуры, которые реагировали бы и с О- и Н-агглютинидами в сыворотке больного.

Наличие в живых культурах, употребляемых для реакции Видаля, Н- и О-антигенов (стр. 685), обнаруживается по следующим признакам.

а) Брюшнотифозная палочка должна быть хорошо подвижной, что доказывает наличие жгутикового аппарата. Она должна до титра или почти до титра агглютинироваться противотифозной сывороткой, причем получается ясная хлопчатая агглютинация.

Для подтверждения наличия полноценного соматического антигена палочка должна агглютинироваться сывороткой Гертнера (микроб Гертнера имеет общий О-антиген с палочкой брюшного тифа) в тех же титрах, в каких агглютинируется гертнеровская культура, кипяченая в водяной бане в течение 1 часа при 100° (т. е. имеющая только О-антиген); при этом агглютинация должна иметь зернистый характер.

б) Культура паратифа А должна быть подвижной и хорошо агглютинироваться соответствующей сывороткой.



в) Культура паратифа В должна быть подвижной и агглютинироваться сывороткой против *V. typhi murium* в тех же титрах, что и кипяченая взвесь палочек *typhi murium* (палочка паратифа В имеет общий О-антиген с палочкой *typhi murium*).

Для постановки реакции Видаля необходимо пользоваться следующими антигенами (живыми культурами или диагностикумами): 1) полноценным штаммом микробов брюшного тифа; 2) для выявления О-агглютининов при брюшном тифе штаммами паратифа N<sub>2</sub> (Ивашенцева) или О<sub>901</sub> Феликса; для постановки реакции Видаля безразлично, пользоваться ли штаммом N<sub>2</sub> Ивашенцева или О<sub>901</sub> Феликса, так как они оба вводятся для обнаружения О-агглютинации, часто выявляющейся в ранние стадии заболевания; 3 и 4) кроме того, необходимо введение в реакцию Видаля паратифозных культур А и В.

Таким образом, для постановки реакции Видаля готовят 4 ряда одинаковых последовательных разведений сыворотки и в каждый ряд добавляют один из 4 указанных диагностикумов (или культур). Дальнейший ход реакции описан выше.

В формулировке ответа лаборатория должна придерживаться протокольного порядка и отмечать положительную или отрицательную реакцию во всех разведениях сыворотки, причем в положительных случаях отмечается степень реакции. Последнее можно условно делать или крестиками:  $++++$ ;  $+++$ ;  $++$ ;  $+$ ;  $\pm$ , или словами: полная, резкая, положительная, слабо положительная, сомнительная.

Пример. Реакция Видаля положительна с культурой брюшнотифозной палочки в разведениях 1:100  $++++$ , 1:200  $+++$ , 1:400  $++$ ,  
 $++$   $+$

и т. п.

Реакция Видаля с культурами брюшного тифа и паратифов считается диагностически положительной, если агглютинация появляется в разведении сыворотки 1:100; сыворотки сыпнотифозных больных иногда обладают полиагглютинабельностью, т. е., наряду с культурами протей X<sub>19</sub>, агглютинируют также культуры микробов брюшного тифа и особенно паратифа А. Сыворотки брюшнотифозных больных часто одновременно с тифозной палочкой агглютинируют и паратифозные штаммы (групповая агглютинация). В таких случаях правильную ориентировку может дать постановка реакции до титра сыворотки. Обычно титр сыворотки в реакции с возбудителем заболевания превышает остальные. Еще лучше решается вопрос при применении способа Фишера. Фишер предложил при постановке реакции Видаля для исключения групповых агглютининов и выявления специфических пользоваться вместо физиологического раствора (0,85%) гипертоническим раствором NaCl 2,9% или 5,8%<sup>1</sup>. Методика постановки реакции агглютинации при этом не изменяется.

Реакция Видаля может быть положительной и при отсутствии заболевания брюшным тифом или паратифом в случае какого-нибудь случайного заболевания (например, гриппа), если больной прежде перенес заболевание брюшным тифом (анамнестическая реакция). Наконец, реакция Видаля может быть положительной в течение некоторого времени после прививок (прививочный Видаль).

В обоих случаях ориентировка может быть получена при введении в реакцию штамма О<sub>901</sub> или N<sub>2</sub> Ивашенцева, которые обычно не дают положительной реакции ни в случае наличия анамнестических агглютининов, ни в случае прививочного Видаля и позволяют, таким образом,

<sup>1</sup> Детали методики и ее обоснование см. в книге Фишера «Теория и практика серодиагностики острых инфекционных заболеваний», Л., 1940.



дифференцировать (в положительных случаях) истинное заболевание. О-агглютинины появляются уже в ранней стадии болезни, а при прививочных и анамнестических реакциях преобладают Н-агглютинины.

Во всех затруднительных случаях рекомендуется постановка реакции агглютинации повторно через 2—3 дня. Ни групповые, ни анамнестические, ни прививочные агглютинины не обнаруживают нарастания титра при повторной постановке реакции; наоборот, в этих случаях может наблюдаться падение титра агглютининов. Накопление агглютининов свойственно только динамике острого заболевания (исключая процесс, протекающий при активной профилактической иммунизации).

**2) Серодиагностика дизентерии.** Агглютинины в крови дизентерийных больных появляются между 4-м и 7-м днем заболевания и позднее, поэтому кровь на исследование берется в течение всего заболевания.

В качестве антигенов применяются диагностикумы или (что хуже) живые культуры дизентерийных микробов Шига, группы Флекснера, а также культуры Зонне. Так как культуры Зонне имеют два варианта (выпуклый и плоский), необходимо ставить реакцию с обоими видами.

Все дизентерийные культуры, употребляющиеся для реакции, должны вести себя биохимически типично и быть проверены на чувствительность к специфическим сывороткам и на специфичность в пробе с нормальными сыворотками (не меньше чем с сыворотками от 20 здоровых людей, не болевших дизентерией). Пригодными считаются культуры, дающие агглютинацию не выше чем в 25% испытанных нормальных сывороток, и при этом агглютинация такими нормальными сыворотками для культуры Шига не должна превышать титра 1:50, а для штаммов Флекснера 1:100.

Из культур, отобранных таким образом, рекомендуется приготовить диагностикумы.

Диагностикумы готовятся из суточной агаровой культуры, которую смывают физиологическим раствором, разводят по стандарту 2—3 млрд. в 1 см<sup>3</sup>, убивают и консервируют прибавлением 0,2% нейтрального формалина. Диагностикумы проверяют, как и живые культуры, на специфичность и чувствительность.

Методика постановки реакции аналогична постановке реакции Видаля с той лишь разницей, что пробирки с опытом остаются в термостате до следующего дня или их держат на водяной бане при 55° в течение 4 часов.

При чтении реакции диагностической считается агглютинация с палочкой Шига в разведении от 1:100 и с палочкой Флекснера — от 1:200. Реакция агглютинации со штаммом Зонне должна учитываться в очень слабых разведениях сыворотки — от 1:25.

Нарастание титра агглютининов в течение болезни при повторных исследованиях подтверждает диагноз.

Реакция агглютинации при дизентерии может расцениваться только как вспомогательный метод в ряду других симптомов и самостоятельного диагностического значения не имеет.

**3) Реакция кольцепреципитации с полным антигеном при брюшном тифе, паратифах и дизентерии.** Сущность новых ускоренных методов, применяемых в Московском городском институте эпидемиологии и бактериологии для диагностики кишечных инфекций, заключается в использовании для диагностических целей учения о полном антигене (эндотоксине) и гаптене грамотрицательных микробов<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Подробнее см. в соответствующих руководствах: Зильбер Л. А. «Основы иммунизации», Медгиз, 1948 и др.



Возможность получения в чистом виде полного антигена и гаптена, представляющих специфическую антигенную часть микробной клетки, открывает пути для выявления антител в крови даже при нахождении их в ничтожном количестве.

На основании этого положения был разработан метод кольцепреципитации с сывороткой больных, причем в качестве антигена употребляется эндотоксин, получаемый по методу Буавена<sup>1</sup>.

При острых лихорадочных заболеваниях или при подозрении на брюшной тиф или паратифы используются полные антигены брюшнотифозной палочки, паратифа А, паратифа В и других салмонелл. Антиген хранится в высушенном виде (белый порошок). Для производства реакции он разводится в 1 000 раз: 1 мг на 1 см<sup>3</sup> физиологического раствора (0,85% NaCl). Это исходное разведение может служить для работы в течение 2 недель при хранении в холодильнике. Исследуемая сыворотка (неразведенная или разведенная пополам) наливается в узкую пробирку в количестве около 0,1 см<sup>3</sup>. На сыворотку тонкой пастеровской пипеткой наслаивается примерно равное количество полного антигена (1:1 000). В положительных случаях на грани между двумя жидкостями появляется ясно очерченное белое кольцо. При наличии большого количества антител кольцо появляется немедленно. Наблюдение ведется до 1 часа при комнатной температуре.

При дизентерии применяется полный антиген из микробов Гисс-Флекснера, приготовленный с учетом пяти серологических типов, и полный антиген из микробов Шига. Постановка реакции полностью повторяет методику, описанную для брюшного тифа.

В применении к дизентерии нужно отметить, что эта реакция имеет особенное значение в поздние дни болезни, когда количество преципитинов в крови резко возрастает, а высеивание из фекалий удается редко. При брюшном тифе реакция получается положительной уже в первые дни болезни, раньше чем выявляются агглютинины.

4) **Реакция связывания комплемента** — см. главу под этим названием в разделе «Кровь».

## СЕРОДИАГНОСТИКА СЫПНОГО ТИФА

Единственным доступным для практических лабораторий методом диагностики сыпного тифа являются серологические реакции с сывороткой больного. Антигеном в этих реакциях может служить взвесь протей ОХ<sub>19</sub>, который реагирует с сывороткой сыпнотифозных больных и реконвалесцентов, благодаря общности термостабильной антигенной фракции с возбудителями сыпного тифа — риккетсиями Провачека. За последнее время разработана методика реакции агглютинации со взвесью самих риккетсий.

1) **Реакция Вейль-Феликса.** Агглютинины к протей ОХ<sub>19</sub> появляются в крови сыпнотифозных больных довольно рано, еще на первой неделе заболевания; однако диагностические титры обнаруживаются, как и при брюшном тифе, в течение второй недели болезни.

Реакция агглютинации с протесом ОХ<sub>19</sub> носит название реакции Вейль-Феликса и является общепринятым методом лабораторного исследования при сыпном тифе.

Методика постановки реакции Вейль-Феликса аналогична постановке реакции Видаля. Антигеном служит живая или убитая (диагностикум)

<sup>1</sup> Подробное описание этого метода см. в ЖМЭИ, № 5, 1940, № 5—6, 1941 и в Лабораторной практике, № 2 и 6, 1941.



культура протей ОХ<sub>19</sub>. К живым культурам предъявляется требование, чтобы штамм не давал ползучего роста, для чего его время от времени проводят через карболовый агар. Штаммы хранят на подсушенном нейтральном агаре (рН=7,0) в леднике, и из этого запаса делают пересевы на обычный агар для постановки реакции. Запас возобновляется по мере истощения. Обычно реакцию Вейль-Феликса ставят одновременно с реакцией Видаля.

Для ускорения ответа рекомендуется ставить реакцию в модификации Нобля. При помощи этой реакции серологический диагноз сыпного тифа может быть поставлен в первые дни заболевания.

Сыворотку больного разводят 1:5; 1:10; 1:20; 1:40 и выше. В агглютинационные пробирки наливают по 0,1 см<sup>3</sup> или по 2 капли каждого разведения сыворотки и добавляют по 0,1 см<sup>3</sup> или по 2 капли диагностикума ОХ<sub>19</sub> (или взвеси живой культуры). Штатив с пробирками встряхивают в течение 5 минут. Затем в каждую пробирку приливают по 0,8 см<sup>3</sup> или по 16 капель физиологического раствора и прочитывают результаты реакции. Следует помнить, что при прибавлении антигена сыворотка разводится вдвое против первоначального разведения, т. е. в пробирке, куда была взята сыворотка в разведении 1:5, реакция протекает при разведении 1:10; там, где была налита сыворотка 1:10, реакция произошла при разведении 1:20 и т. д. При оценке результатов следует применить поправочный коэффициент, равный 10. Коэффициент выражает разницу между адсорбционными процессами в концентрированных растворах антигена и антител (по методу Нобля) и при обычных концентрациях (в реакции Вейль-Феликса). В первом случае реакция протекает быстро, но менее совершенно, во втором — медленнее, но полнее. Таким образом, разведение 1:10 по Ноблю соответствует 1:100 при обычной постановке реакции, 1:20 соответствует 1:200, 1:40 — 1:400 и т. д.

Таблица 68

Схема постановки реакции агглютинации риккетсий

№ пробирки	Сыворотка в см <sup>3</sup>	Физиологический раствор в см <sup>3</sup>	Диагностикум в см <sup>3</sup>	Конечное разведение сыворотки
1	Из исходного разведения 0,25	—	0,25	1:50
2	Из исходного разведения 0,25	0,25	0,25	1:100
3	↓ 0,25	0,25	0,25	1:200
4	↓ 0,25	0,25	0,25	1:400
5	↓ 0,25	0,25	0,25	1:800
6	↓ 0,25	0,25	0,25	1:1 600
7	—	0,25	0,25	Контроль диагностикума
8	Из исходного разведения 0,25	0,25	—	Контроль сыворотки



2) **Реакция агглютинации риккетсий**<sup>1</sup>. В качестве антигена в реакции используется взвесь риккетсий, полученных из легких зараженных мышей и убитых фенолом. Этот диагностикум должен храниться в леднике и в таких условиях пригоден для работы не менее 6 месяцев.

Реакция ставится в объеме 0,5 см<sup>3</sup>. Употребляются разведения сыворотки от 1:25 до 1:800 в объеме 0,25 см<sup>3</sup>. Диагностикум добавляется в каждую пробирку тоже в объеме 0,25 см<sup>3</sup>. Готовят исходное разведение сыворотки 1:25 — 0,1 см<sup>3</sup> сыворотки + 2,4 см<sup>3</sup> физиологического раствора. Из него готовят дальнейшие разведения, как показано в схеме (табл. 68).

Пробирки встряхивают и помещают в термостат до следующего дня. Прочитывают реакцию при помощи агглютиноскопа, так как агглютинация риккетсий мелкозерниста.

Так как реакция высокоспецифична, то положительный результат уже в первой пробирке (1:50) считается диагностически доказательным. Благодаря той же специфичности, реакция агглютинации риккетсий дает более надежные ответы и выявляет агглютинины в таких случаях, когда реакция Вейль-Феликса запаздывает или отсутствует, например, при повторном сыпном тифе или заболевании у вакцинированных.

### СЕРОДИАГНОСТИКА БРУЦЕЛЛЕЗА

Бактериологическое исследование крови, мочи и т. п. при бруцеллезе производится в специальных лабораториях. Для обычных практических лабораторий методом диагностики бруцеллеза являются серологические исследования. Среди последних наиболее принята реакция агглютинации в разных модификациях. Реакция связывания комплемента, реакция флоккуляции и реакция преципитации используются редко, главным образом в научно-исследовательских целях.

1) **Реакция Райта**. Реакция Райта представляет собой реакцию агглютинации, аналогичную реакции Видаля.

Реакция ставится всегда с убитой взвесью бруцелл, вследствие их высокой инфекционности. Продажный диагностикум содержит в 1 см<sup>3</sup> 10 млрд. микробных тел. Поэтому перед постановкой реакции он разводится физиологическим раствором в 10 раз, т. е. в реакцию вводят взвесь, содержащую 1 млрд. микробных тел в 1 см<sup>3</sup>.

В пробирках готовится ряд разведений сыворотки 1:50; 1:100; 1:200; 1:400 в объеме 0,5 см<sup>3</sup> (методику см. стр. 728). В каждую пробирку приливают по 0,5 см<sup>3</sup> разведенного диагностикума. Получаются разведения сыворотки 1:100; 1:200; 1:400; 1:800 в объеме 1 см<sup>3</sup>, содержащие 500 млн. микробных тел. Обязателен контроль диагностикума (диагностикум + физиологический раствор без сыворотки) и контроль сыворотки (исходное разведение сыворотки без диагностикума). Пробирки встряхивают и помещают в термостат до следующего дня.

Учет результатов производят простым глазом. Диагностически доказательным считается титр от 1:200.

2) **Реакция Хеддльсона**. Реакция Хеддльсона более чувствительна, чем реакция Райта. Вместе с тем она проще по методике и дает быстрый ответ. Так как она не менее специфична, чем реакция Райта, то она получила широкое распространение.

В реакции Хеддльсона в качестве антигена используют тот же диагностикум, что и для реакции Райта, однако он не разводится в 10 раз.

<sup>1</sup> Изложена по методике Э. А. Шульман (Москва).



Обычное стекло (оконное) нарезают пластинками размером  $30 \times 25$  см. Таковую пластинку тщательно вымывают, ополаскивают спиртом для обезжиривания, вытирают чистой тряпкой или полотенцем. Затем стекло разламывают в длину на 7 квадратов ( $4 \times 4$  см). В первый квадрат слева вписывают фамилию или номер больного. В каждый из следующих квадратов на стекло наносят (микропипеткой) исследуемую сыворотку:  $0,08 \text{ см}^3$ ;  $0,04 \text{ см}^3$ ;  $0,02 \text{ см}^3$ ;  $0,01 \text{ см}^3$ ;  $0,004 \text{ см}^3$ ; в последний квадрат сыворотку не вносят. Затем к каждой капле сыворотки, за исключением последней (в шестом квадрате), добавляют по  $0,03 \text{ см}^3$  диагностикума.  $0,03 \text{ см}^3$  микробной взвеси вносят также в седьмой квадрат. В шестой и

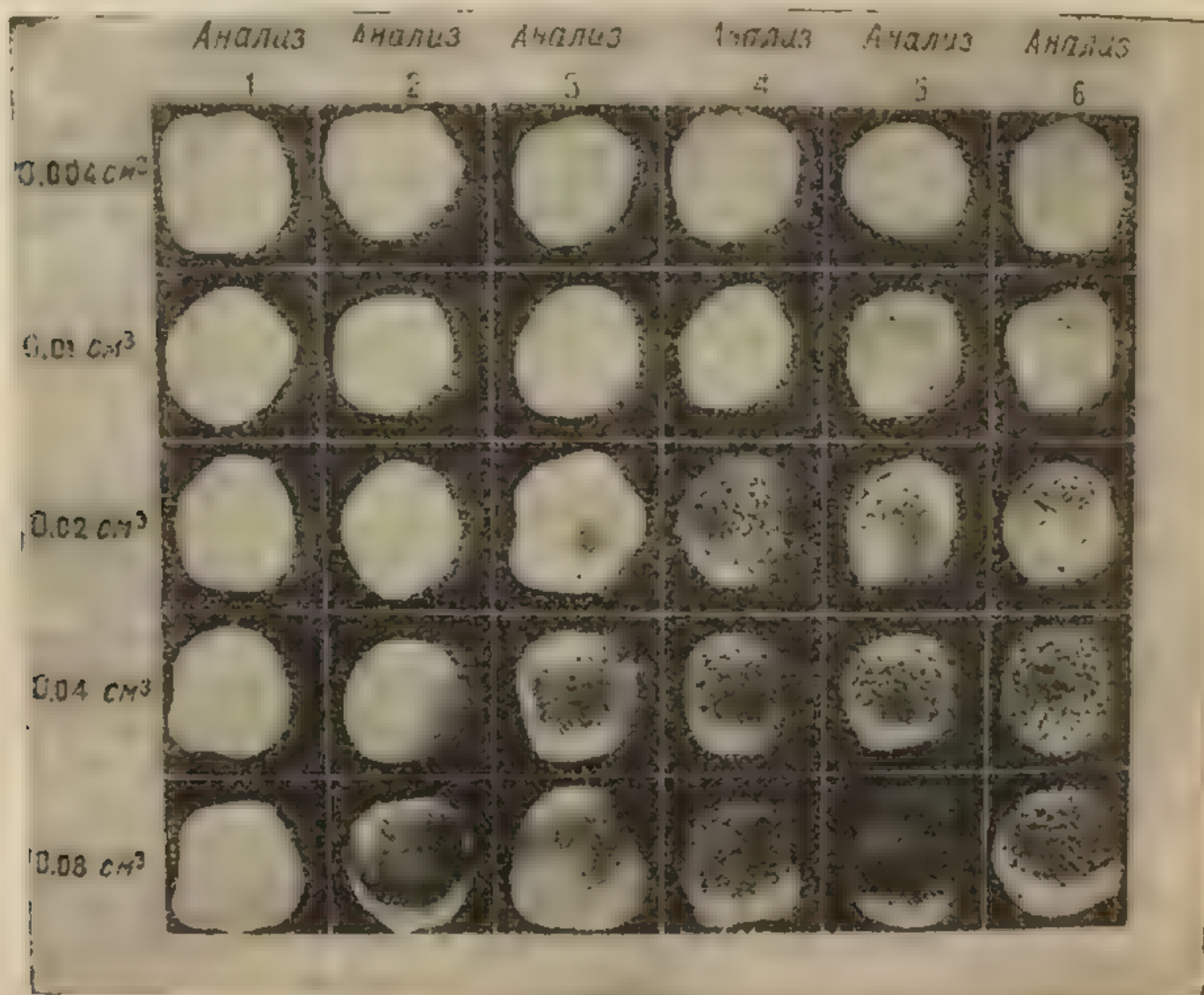


Рис. 368. Реакция агглютинации по Хеддльсону.

седьмой квадраты приливают по  $0,03 \text{ см}^3$  физиологического раствора. Антиген и сыворотку перемешивают стеклянной палочкой по направлению от большего разведения к меньшему, т. е. начиная от пятого квадрата ко второму. Затем стекло в течение 3 минут подогревают над пламенем спиртовки, стараясь обеспечить равномерность подогрева. При положительной реакции сейчас же после подогревания в каплях выпадают ясно видимые хлопья. Учет реакции ведут в течение 5—8 минут. В контрольных каплях не должны выпадать хлопья или зерна (рис. 368).

Разведения сыворотки приравниваются к таковым при реакции Райта. Капля с  $0,08 \text{ см}^3$  сыворотки равна разведению 1:50, с  $0,04 \text{ см}^3$  — разведению 1:100, с  $0,02 \text{ см}^3$  — разведению 1:200, с  $0,01 \text{ см}^3$  — разведению 1:400.

Как в реакции Райта, так и в реакции Хеддльсона возможно появление феномена зональности, когда положительный результат отмечается в больших разведениях сыворотки при отсутствии его в меньших разведениях. В этих случаях результат отмечается, как обычно, по последнему разведению, в котором наблюдается агглютинация.



Положительные серологические ответы могут быть получены при бруцеллезе очень рано, в первые дни, а иногда и в первый день лихорадочного состояния. Агглютинины обычно обнаруживаются в высоком титре в течение года; при снижении титра они нередко сохраняются еще 2—3 года.

## СЕРОДИАГНОСТИКА ТУЛЯРЕМИИ

В целях серологической диагностики туляремии применяется реакция агглютинации в двух модификациях: реакция агглютинации в пробирках и кровяно-капельная реакция на предметном стекле.

1) Реакция агглютинации. Реакция агглютинации выполняется подобно тому, как это описано для реакции Райта. В качестве антигена применяется туляремийный диагностикум, содержащий 5 млрд. микробных тел в 1 см<sup>3</sup>. Диагностикум при условии хранения на холоду пригоден для работы в течение 3—4 лет. Перед употреблением диагностикум разводится физиологическим раствором в 5 раз, т. е. до содержания 1 млрд. микробных тел в 1 см<sup>3</sup>.

В пробирки разливается испытуемая сыворотка в разведениях от 1:50 до 1:800 по 0,5 см<sup>3</sup> каждого. Во все пробирки добавляют по 0,5 см<sup>3</sup> разведенного в 5 раз диагностикума. Необходимы контроли сыворотки и диагностикума (см. реакцию Райта). Пробирки встряхивают и выдерживают в термостате при 37° в течение 2 часов. После предварительного учета результатов опыт оставляют при комнатной температуре до следующего дня.

Оценка полученных результатов производится по обычной методике, описанной выше (стр. 732).

Диагностически доказательны титры сыворотки от 1:100.

2) Кровяно-капельная реакция. Кровяно-капельная реакция производится с упомянутым выше неразведенным туляремийным диагностикумом.

На чистое обезжиренное предметное стекло наносят толстую каплю крови, взятой у больного из пальца после прокола иглой Франка. Рядом с каплей крови кладут каплю диагностикума и каплю дистиллированной воды. Стеклопалочкой или углом чистого предметного стекла соединяют все три капли и легким покачиванием стекла перемешивают их.

При положительном результате немедленно наступает реакция агглютинации, наблюдаемая невооруженным глазом. При слабо положительном результате агглютинация появляется через 2—3 минуты.

Агглютинины появляются в крови больных туляремией между 10-м и 15-м днем от начала заболевания. Поэтому во многих случаях реакция агглютинации имеет значение только для ретроспективного диагноза.

## ГЛАВА ПЯТАЯ

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ К МЕТОДИКЕ ОПЫТОВ НА ЖИВОТНЫХ

В целях диагностического лабораторного исследования опытом на животных пользуются довольно часто. В некоторых случаях необходимо ввести исследуемый материал лабораторному животному для обнаружения патогенных микробов (пневмококк, туберкулезные палочки) или для



проверки выделенной культуры на вирулентность (дифтерийные палочки) и т. д.

Для работ на лабораторных животных чаще всего пользуются белыми мышами, морскими свинками и кроликами и гораздо реже крысами, голубями, кошками, собаками, обезьянами. Заражение производят различным путем: скармливанием, ингаляцией распыленного материала, но чаще всего введением под кожу, в кожу, в мышцу, в вену или в полость брюха.

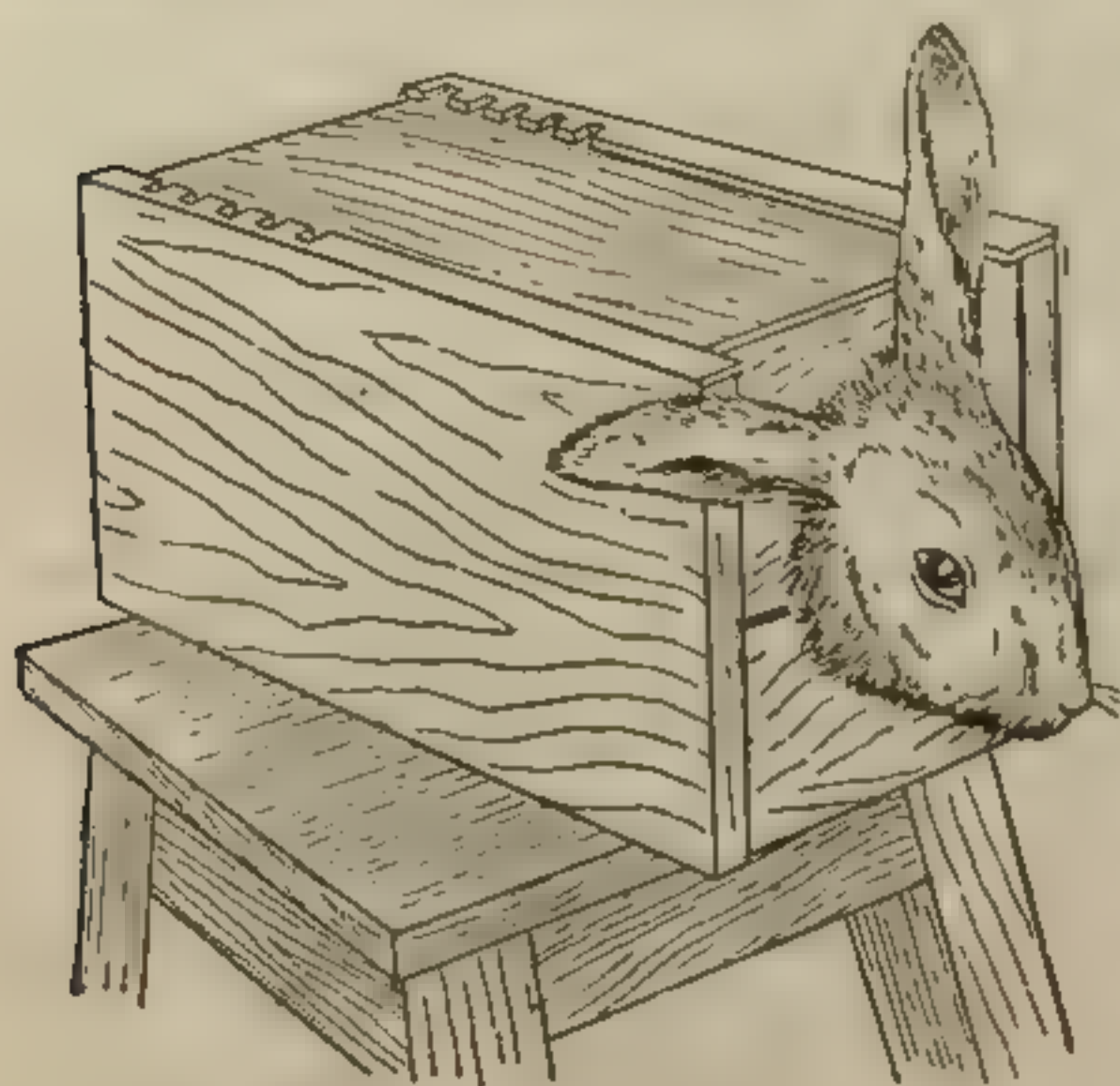


Рис. 369. Бокс для кролика.

**1) Фиксация животных.** Во всех случаях при заражении необходимо удерживать животное неподвижно. Для этого существуют специальные станки и столики (рис. 369). Однако и в отсутствии их можно фиксировать животных различными способами. Кроликов проще всего запеленать в полотенце или тряпку, оставив свободным то место, в которое нужно сделать укол. Морскую свинку можно тоже запеленать или ее за лапки держит помощник, положив на стол на спину. Белую мышь берут за хвост и, дав ей возможность двигаться, не выпуская хвоста, захватывают другой рукой кожу на затылке

(рис. 370). В этом положении, слегка растянув мышь, помощник может повернуть ее спиной или животом вверх (рис. 371). При работе с мышью можно обойтись и без помощника. Держа правой рукой мышь за хвост и дав ей двигаться по столу, надо захватить указательным и большим пальцами левой руки складку на шее ближе к ушам. Затем поворачивают левую руку ладонью вверх и, вытянув мышь за хвост, остальными пальцами и мякотью ладони захватывают хвост и заднюю левую лапку. Освободив таким образом правую руку, производят ею инъекцию.



Рис. 370. Фиксирование мыши, I момент.

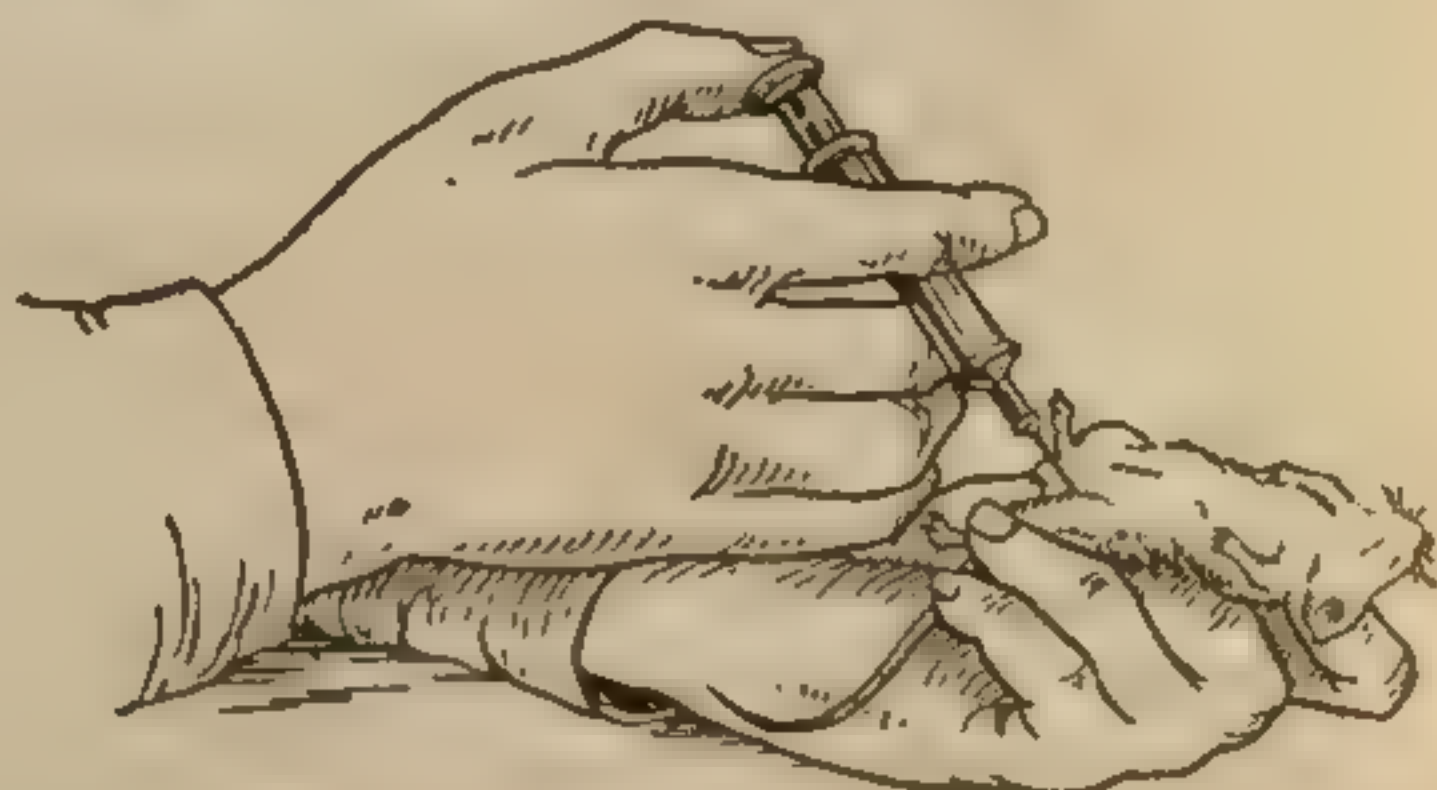


Рис. 371. Фиксирование мыши, II момент.

**2) Техника введения животным заразного материала.** Подкожное впрыскивание производят у кроликов и морских свинок под кожу живота (рис. 372), у белых мышей — на спине. На месте инъекции выстригают шерсть. Перед введением промывают кожу спиртом и физиологическим раствором и, набрав в стерильный шприц материал, вводят его как обычно. Можно предварительно выщипать шерсть на месте инъекции.

Для внутрикожного введения требуется более тщательная обработка. Накануне впрыскивания у кролика или морской свинки на боку или на спине подстригают шерсть на нужном участке и, кроме того, выбривают это место безопасной бритвой. Можно снять шерсть специаль-



ной пастой, состоящей из равных частей сернистого бария и пшеничной муки с небольшим количеством воды. Эту пасту накладывают на избранный для внутрикожной пробы участок кожи, через 4—5 минут снимают ее, промывают теплой водой и протирают чистой тряпкой. Такая обработка нацело снимает шерсть, однако часто сопровождается раздражением кожи. Внутрикожные впрыскивания производятся иглами № 25 с коротко срезанной бородкой.



Рис. 372. Подкожное заражение морской свинки.

Для внутривенного введения исследуемого материала у кроликов используют краевые ушные вены (рис. 373). Место введения промывают спиртом. Прижав вену пальцем у корня уха, помощник вызывает ее набухание. Когда игла шприца введена в вену, помощник перестает прижимать ее, и вводимая жидкость легко входит. По окончании выводят иглу и прижимают место укола ваткой.



Рис. 373. Впрыскивание в вену кролика.

Морским свинкам инъекции в вену делают редко. Если нужно что-либо ввести им в кровеносную систему или при взятии крови, пользуются уколом в сердце, как описано в главе «Реакция связывания комплекта» (стр. 77).

У белых мышей для введения в кровь пригодны вены хвоста. Для того чтобы вызвать гиперемию, можно предварительно опустить хвост мыши в чистую теплую воду (40°). При инъекции помощник держит мышь за кожу на затылке, а другой рукой — у корня хвоста, зажимая его двумя пальцами так, чтобы прижать избранную вену. После введения иглы в вену помощник перестает ее прижимать. По окончании впрыскивания место укола зажимают ваткой.



Для внутривенных введений рекомендуется пользоваться тонкими иглами (№ 23) с длинной бородкой (рис. 374). Шприц надо сильно наклонить, чтобы игла была почти параллельна вене.

При внутрибрюшинном заражении животное нужно держать вниз головой и делать укол в нижней трети живота, чтобы не повредить кишки. Однако следует помнить, что игла, введенная слишком низко, может попасть в мочевой пузырь или в половые органы (у самок). Для такой инъекции пользуются иглой со слегка притупленным острием (рис. 374); кожу на подготовленном участке надрезают маленькими ножницами.

В некоторых случаях, например, при исследовании материала, вызвавшего токсикоинфекцию, необходимо заразить животное через пищеварительный тракт. Самым простым способом такого заражения является смешивание исследуемого материала с кормом. Однако в этом случае невозможно учесть количество введенного материала.



Рис. 374. Иглы; справа — для внутривенного, слева — для внутрибрюшинного введения.

Гораздо точнее получается скормливание при закапывании материала в рот животного. Материал набирают в градуированную пипетку или в шприц с иглой. Животное удерживают в вертикальном положении, пинцетом, или надавливая пальцами на щеки, открывают рот и капают по капле, каждый раз давая проглотить. Таким образом можно кормить кроликов, морских свинок и мышей. Можно также вводить материал животным в желудок через тонкий зонд, надетый на шприц.

Инструменты и материал для введения животным должны подготавливаться строго стерильно. Шприцы и иглы следует прокипятить 5—10 минут в дистиллированной воде. При этом шприц должен быть разобран, а в иглу вставлена нержавеющая проволочка (мандрен). Очень удобно иметь наготове иглы, стерилизованные сухим жаром. Их помещают в маленькие пробирки (агглютинационные, вассермановские), на дне которых лежит клочок ваты. Иглу закладывают острием вниз, пробирку закрывают ватной пробкой и стерилизуют в сухожарном шкафу, как посуду. Таким же образом можно заранее стерилизовать шприцы Люэра, вынув поршень из цилиндра и завернув все вместе в бумагу.

Перед опытом собирают шприц, надевают иглу и набирают исследуемого материала немного больше, чем нужно. Затем переворачивают шприц иглой вверх, покрывают последнюю кусочком ваты, смоченным в спирте или карболовом растворе, и выталкивают пузырьки воздуха из шприца. По окончании опыта шприц и игла должны быть сначала стерилизованы кипячением, а потом вымыты и высушены.

## ОБНАРУЖЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА

Для обнаружения присутствия туберкулезных палочек подозрительный материал вводится морским свинкам как животным, наиболее чувствительным к туберкулезной инфекции. Благодаря своей чувствительности, морские свинки отвечают на введение минимальных количеств микробных тел прогрессирующим генерализованным туберкулезным процессом.

Материал для исследования, не содержащий сопутствующей флоры, вводится свинкам без предварительной обработки. К таким материалам относится спинномозговая жидкость, экссудаты, кусочки тканей. Если исследуемый материал богат разнообразной микрофлорой, как это имеет



место в мокроте, гное, щелочной моче, то его предварительно обрабатывают серной кислотой. С этой целью к 3 см<sup>3</sup> мокроты добавляют 6 см<sup>3</sup> 6% серной кислоты, встряхивают 10 минут и центрифугируют на электрической центрифуге (2 000—3 000 оборотов) в течение 20 минут. Жидкость сливают, осадок взвешивают в физиологическом растворе и снова центрифугируют. Полученный осадок разбавляют 2—3 см<sup>3</sup> физиологического раствора. Вместо серной кислоты применяют также 3% соляную кислоту, в которой оставляют исследуемый материал в течение 2 часов при комнатной температуре.

За 2 дня до опыта морским свинкам вводят внутрикожно 0,1 см<sup>3</sup> туберкулина в разведении 1:10. Этой пробой выявляется наличие спонтанного туберкулеза у животных. В этом случае на месте введения туберкулина через 24—48 часов появляются гиперемия и инфильтрат. Таких свинок отводят.

Испытуемый материал в количестве 2—3 см<sup>3</sup> вводят морским свинкам подкожно в бедро (ближе к паху). Полезно после введения несколько травмировать паховую лимфатическую железу, разминая ее пальцами.

При наличии во введенном материале живых вирулентных туберкулезных микробов паховая железа через 6—10 дней, а после травмирования и раньше, увеличивается, что можно определить прощупыванием. В эти же сроки на месте введения появляется уплотнение, которое может вскрыться и выделять густой гной. Животное, у которого обнаружены эти явления, можно убить и в гное и ткани паховой железы обнаружить кислотоустойчивые палочки. Можно вырезать железу, не убивая животного, наложить 1—2 шва и предоставить процессу генерализоваться.

В этом случае, а также если местно и в паховой железе не обнаруживаются патологические изменения, свинку убивают через 6—8 недель. При наличии туберкулезного процесса на вскрытии зараженных свинок находят бугорки и казеозный распад в лимфатических железах брюшины, бронхиальных железах, селезенке, печени и легких. В мазках, приготовленных из раздавленных бугорков и казеозного распада, обнаруживаются туберкулезные палочки. Рекомендуется исследовать железы и органы гистологически.

## ОБНАРУЖЕНИЕ И ТИПИРОВАНИЕ ПНЕВМОКОККОВ

Выделение пневмококков в чистой культуре бактериологическими методами представляет большие трудности, так как обычно материал для посева (мокрота, гной) содержит обильную сопутствующую микрофлору, которая заглушает рост возбудителя. При введении же материала чувствительному животному (белой мыши) пневмококки в организме размножаются быстрее остальных микробов и развитие пневмококкового сепсиса опережает реакцию организма на другие бактерии.

Небольшой комочек свежей мокроты, не больше горошины, промывают в стерильном физиологическом растворе, переносят в стерильную ступку и растирают в 1 см<sup>3</sup> стерильного бульона, прибавляемого по каплям. 0,5 см<sup>3</sup> полученной взвеси вводят внутрибрюшинно белой мыши (16—20 г весом).

У детей мокроту иногда собирают на тампоне из зева. В этом случае тампон тщательно прополаскивают в 1—2 см<sup>3</sup> стерильного бульона и 0,5 см<sup>3</sup> внутрибрюшинно вводят мыши.

Органы трупа (легкие, печень, селезенка, мозговые оболочки) собирают и доставляют в стерильной чашке Петри. Стерильно отрезают кусочек



органа, растирают в ступке с 1—2 см<sup>3</sup> бульона и вводят 0,5 см<sup>3</sup> полученной взвеси белой мыши внутрибрюшинно.

Если исследуемый материал содержал вирулентных пневмококков, то мышь погибает в течение 24—72 часов. Погибшую мышь по возможности быстро вскрывают и высевают кровь из сердца на сыровоточный бульон и кровяной агар. Посевы помещаются в термостат на 18—20 часов.

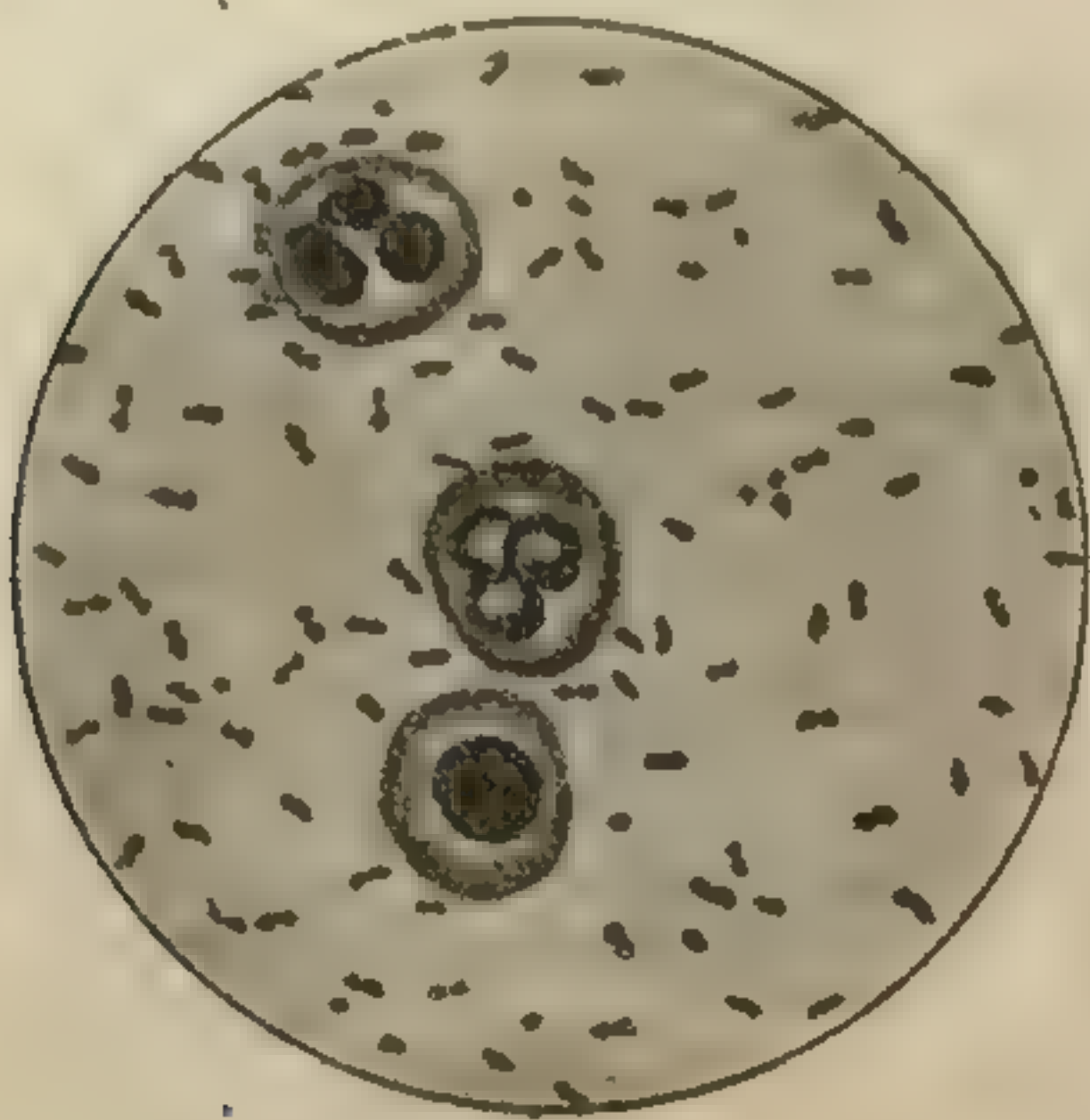


Рис. 375. Пневмококки в мокроте.

Исследование заканчивается изучением колоний на кровяном агаре и мазков из бульона. Колонии пневмококка на кровяном агаре буроватые с зоной позеленения вокруг. Если на такую колонию положить крупинку сухой желчи, то колония растворяется в течение нескольких минут. В мазках из бульонной культуры обнаруживают грамположительные диплококки вытянутой (как пламя свечи) формы, располагающиеся короткими цепочками (рис. 375).

При лечении пневмонии сыровоткой большое значение имеет применение препарата, гомологичного возбудителю.

Так как особой вирулентностью обладают пневмококки I, II и III типа, то и лечебные сыровотки готовятся против этих типов. Отсюда и типирование пневмококков в практической лаборатории обычно проводится в пределах трех первых типов.

**Микроагглютинация.** У мыши, которой ввели внутрибрюшинно подозрительный материал или чистую культуру, через 5—6 часов после заражения пастеровской пипеткой набирают из брюшной полости несколько

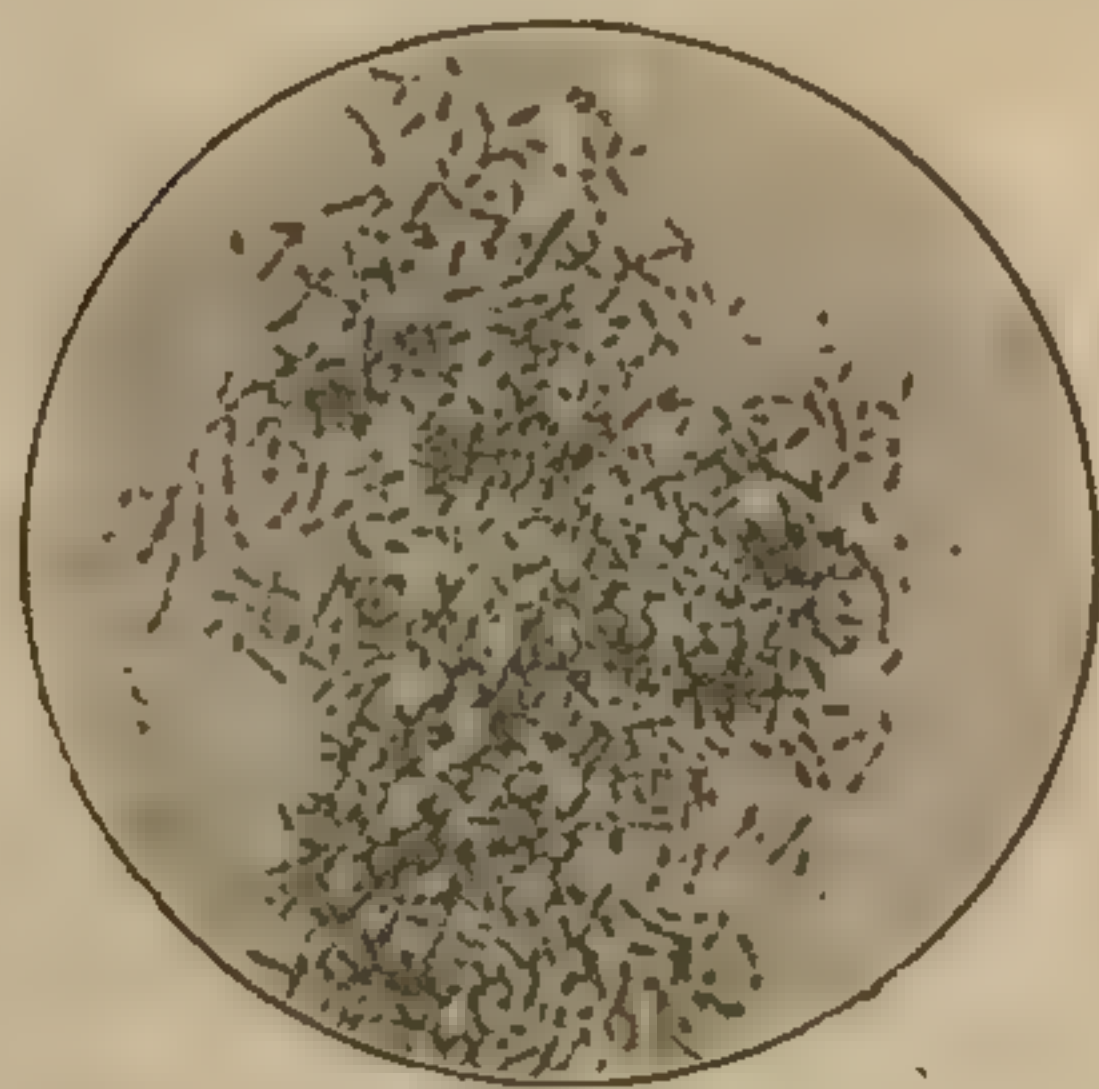


Рис. 376. Пневмококки; микроагглютинация.

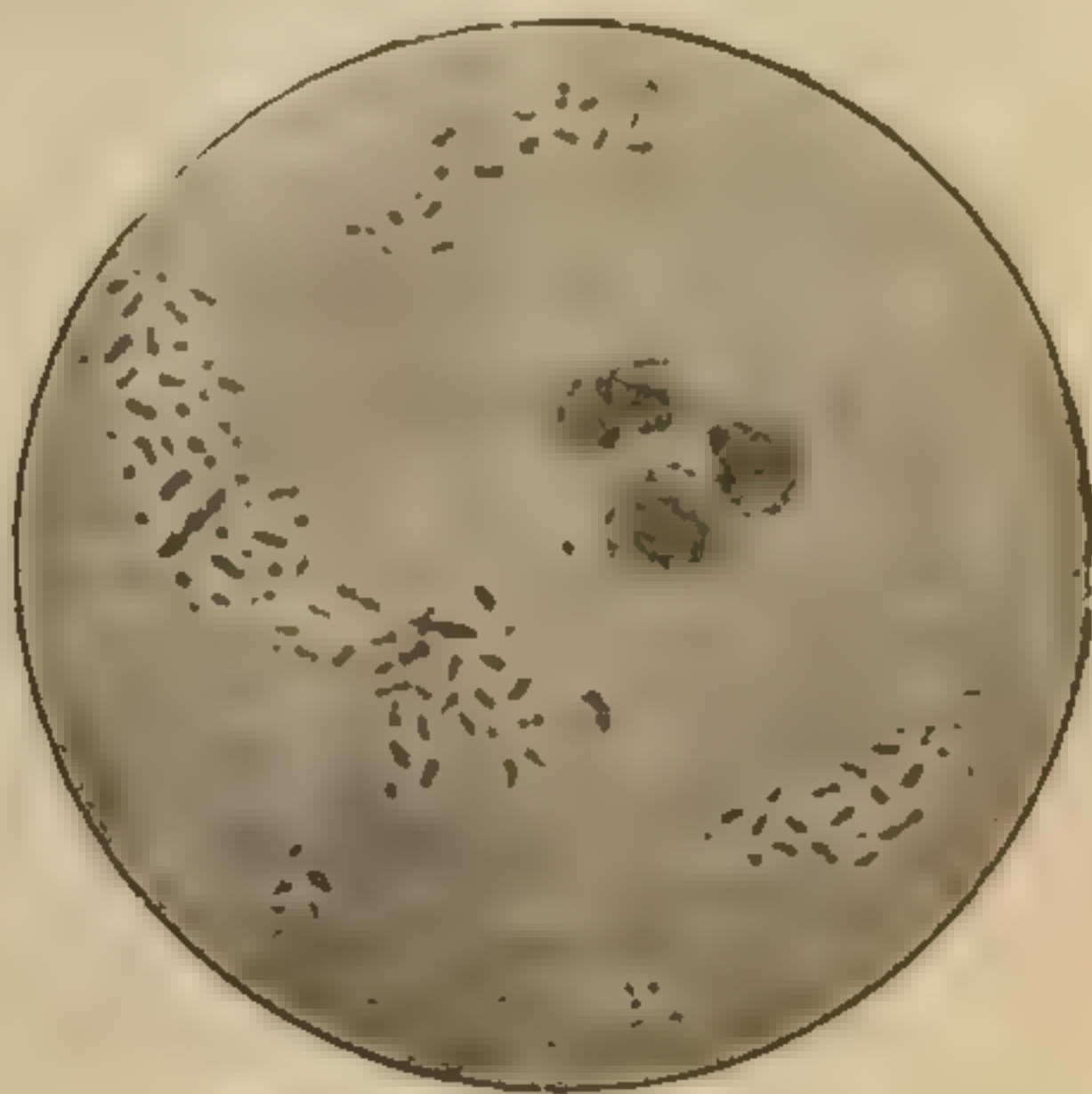


Рис. 377. Феномен набухания.

капель экссудата. Четыре небольшие капли наносят на чистое предметное стекло. К трем из них добавляют по 1 капле агглютинирующих сыровоток: I и II типа в разведении 1:10, III типа в разведении 1:5. К четвертой капле добавляют 1 каплю физиологического раствора для контроля. Капли перемешивают наклоном стекла, высушивают, фиксируют на огне, окрашивают разведенным карболовым фуксином. При микроскопии с иммер-



сконной системой в случае положительной реакции в одном из первых трех мазков обнаруживают скучивание кокков (агглютинация) (рис. 376).

Более быстрым методом является типирование пневмококков в мокроте при помощи феномена набухания Нейфельда.

Мокрота должна исследоваться немедленно после выделения. Допускается хранение только в холодильнике не более 2 часов. При несоблюдении этих правил пневмококки в мокроте лизируются.

Платиновой петлей наносят 3 кусочка мокроты на 3 покровных стекла. К каждому кусочку прибавляют одну петлю неразведенной кроличьей сыворотки I, II и III типа и по одной петле щелочной метиленовой синьки. Капли перемешивают прокаленной и остуженной (важно!) петлей и покровные стекла покрывают предметными стеклами с луночками, как это описано для приготовления висячей капли (стр. 665). Через 2 минуты висячие капли рассматривают под микроскопом с иммерсионной системой при искусственном освещении, поместив под конденсор микроскопа синее стекло. При положительной реакции пневмококки окружены резко увеличенной и очерченной капсулой. При отрицательной реакции капсула едва видна и не имеет ясной границы (рис. 377).

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИРУЛЕНТНОСТИ И ТОКСИЧНОСТИ МИКРОБОВ

Патогенность микроба складывается из ряда свойств, которые обуславливают способность возбудителя вызывать те или иные поражения органов хозяина.

Некоторые из этих свойств могут быть определены экспериментально на животных, и таким образом может быть составлено представление о способе воздействия патогенного микроба на макроорганизм. Часть таких определений может быть использована для диагностических целей. К числу факторов, которые являются компонентами патогенности микроорганизмов и которые поддаются определению, относятся: 1) вирулентность или способность живого микроба размножаться в организме и вызывать быструю смерть определенного хозяина; 2) инвазивность или способность бактерий быстро покидать входные ворота (место внедрения) и распространяться по организму; 3) токсичность, которая может зависеть от токсина, выделяемого живыми бактериальными клетками во внешнюю среду, или от ядовитых продуктов распада убитой микробной клетки.

1) **Определение вирулентности.** Вирулентность определяется всегда на живых культурах микробов методом титрования смертельной дозы для определенного вида животных.

Общеприняты некоторые условные обозначения для доз микробов, которые убивают животное: Dlm (*dosis letalis minima*) — наименьшая доза, которая убивает большинство животных в опыте; Dcl (*dosis certe letalis*) — наименьшая безусловно смертельная доза, убивающая всех животных, введенных в опыт.

В настоящее время многие исследователи рекомендуют пользоваться результатами опыта, в котором применена половина (50%) смертельной дозы микробов —  $DL_{50}$ . Такую смертельную дозу вычисляют статистическим путем из данных, полученных при титровании смертельной дозы, или условно принимают за  $DL_{50} = 50\% Dcl$ <sup>1</sup>.

Для определения вирулентности культуры обычно служат белые мыши. Чаще всего взвесь культуры вводят внутрибрюшинно, но можно вводить ее и в кровь. При введении в мышцу или под кожу смерть

<sup>1</sup> Захарова, ЖМЭИ, № 10, 1946.



животных затягивается на более длительный срок. Для получения сравнимых результатов употребляют животных с одним и тем же весом; например, белых мышей обычно берут весом 16—18 г, морских свинок весом 200—300 г.

Взвесь микробов готовится из молодых культур (18—24-часовых), так как в старых содержится много погибших бактерий. Во всех случаях, когда это возможно, следует пользоваться агаровыми культурами, так как бульон, представляющий собой сложный белковый субстрат, небезразличен для животного организма и может извращать результаты опыта.

В пробирку с агаровой культурой наливают 5 см<sup>3</sup> физиологического раствора и встряхивают пробирку, пока весь налет из бактерий не превратится в густую взвесь. Часть этой взвеси переносят в другую стерильную пробирку, по толщине стенок и диаметру подобную пробирке с государственным бактериальным стандартом. Разводят взвесь физиологическим раствором до тех пор, пока она по степени мутности не сравняется с избранным стандартом. Бактериальные стандарты выпускаются Государственным контрольным институтом (ЦГНКИ) в Москве и содержат 500 млн.; 1 млрд.; 1,5, 2 и 4 млрд. микробных тел в 1 см<sup>3</sup>. Приготовив взвесь, например, в 1 млрд. бактериальных тел в 1 см<sup>3</sup>, можно ввести животному 100 млн. (0,1 см<sup>3</sup>), 200 млн. (0,2 см<sup>3</sup>) и т. д. Следует помнить, что получаемые количества микробных тел правильны для микробов кишечной группы. Для всех других они условны, так как это величина, зависящая от размера микроба. Однако такой способ получения взвеси наиболее употребителен благодаря своей простоте.

Стандартизованную взвесь готовят с таким расчетом, чтобы каждая доза микробов содержалась в одном и том же объеме (например, в 0,5 см<sup>3</sup>) и чтобы приготовленного разведения хватило для введения 3—4 животным.

Для определения вирулентности тифозных и паратифозных микробов обычно пользуются дозами в 100—200—300—400—500 млн.

Пневмококки обладают значительно более высокой вирулентностью. Для определения вирулентности пневмококков 18-часовую культуру на сывороточном бульоне разводят стерильной пептонной водой (рН=7,6) от 1:10 до 1:100 000 000; 0,5 см<sup>3</sup> каждого разведения вводят внутрибрюшинно белым мышам. За 1 Длм принимается наименьшая доза, которая убивает мышей в течение 72 часов.

Дизентерийные микробы, стрептококки и др. мало вирулентны для лабораторных животных. В этом случае приходится вводить 500 млн. — 1 млрд. микробных тел, что отягощает организм мыши продуктами распада микроорганизмов и является испытанием не одной вирулентности, но и токсичности.

В этих случаях к микробной взвеси прибавляют такие заведомые субстраты, которые позволяют значительно уменьшить смертельную дозу. Такими субстратами являются муцин, сливки (по Капусто)<sup>1</sup>, полужидкий агар (по Рогинской)<sup>2</sup>. Последний метод наиболее прост и доступен.

Заготавливают голодный полужидкий агар (0,4% агара в водопроводной или дистиллированной воде), разливают по 5 мл в короткие широкие пробирки, стерилизуют под давлением в 1 атм. Перед опытом растапливают агар на водяной бане, остужают до 40°. В шприц набирают 0,2 см<sup>3</sup> взвеси микробов и 0,8 см<sup>3</sup> полужидкого теплого агара и вводят мышам. В этом случае микробная взвесь должна быть так разведена, чтобы желаемое количество микробных тел содержалось в 0,2 см<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Капусто и Колычева, ЖМЭИ, т. XXI, в. 5 (11), 1938.  
<sup>2</sup> Рогинская, ЖМЭИ, № 8—9, 1942.



Введение в полужидком агаре повышает вирулентность микробов в 5—10 раз.

2) **Определение фактора распространения.** Инвазивность некоторых микроорганизмов (стрептококки, стафилококки) зависит от присутствия у них фермента гиалуронидазы (фактор проницаемости или фактор распространения). Гиалуронидаза расщепляет гиалуроновую кислоту — вещество, входящее в состав межуточной соединительной ткани. Гиалуроновая кислота характеризуется вязкостью и способностью при воздействии на нее уксусной кислоты образовать сгусток. Эти свойства используются для определения наличия фактора проницаемости в изучаемой культуре или в других объектах.

Приготовление гиалуроновой кислоты по методу, разработанному Л. Г. Смирновой, позволяет применить изучение фактора проницаемости в качестве лабораторного исследования.

Для реакции необходимы: 1) раствор гиалуроновой кислоты в соединении с белком (субстрат), 2) 2 п раствор уксусной кислоты; 3) агглютинационные пробирки (стерильные); 4) градуированные пипетки (стерильные).

**Приготовление субстрата (по способу Л. Г. Смирновой).** Первый способ: пупочные канатики, собранные в 0,5% растворе карболовой кислоты, тщательно отмывают дистиллированной водой от крови и очищают от сосудов, мелко нарезают, дважды пропускают через мясорубку, взвешивают на весах, заливают полуторным объемом дистиллированной воды и в течение 30 минут оставляют на столе при повторном встряхивании; затем выливают на воронку с наложенной в 2—3 слоя стерильной марлей, отжимают и бросают на 1 минуту в кипящую воду, количественно соответствующую первоначальному весу измельченных канатиков (должны вскипеть один раз). Жидкость быстро фильтруют через двойной слой марли в стерильные пробирки (или ампулы); в каждую добавляют несколько капель хлороформа. Пробирки закрывают ватной пробкой и ставят на холод.

Субстрат должен представлять собой опалесцирующую вязкую жидкость с содержанием белка 0,1—0,12%. Вязкость его при 16° равна 5—7.

Второй способ: пупочные канатики после пропускания их через мясорубку, как указано выше, хорошо растирают в ступке, взвешивают и высушивают ацетоном: для этого их заливают двойным объемом обезвоженного ацетона, хорошо взбалтывают и оставляют на 2 часа. Ацетон сливают и наливают свежую порцию. Эта процедура повторяется дважды. С последним ацетоном пупочную кашицу оставляют до следующего дня.

После сливания последнего ацетона пупочную массу отжимают фильтровальной бумагой и сушат в токе комнатного воздуха (баллоном). Сухую массу измельчают в ступке; она должна представлять собой сухой, крупнозернистый порошок светлокофейного цвета, стойкий при хранении в сухом холодном месте.

Для производства реакции 0,15 г порошка добавляют к 10 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, хорошо взбалтывают и через 1—2 часа центрифугируют. Стоящая сверху вязкая жидкость пригодна для производства реакции.

**Производство реакции.** Субстрат предварительно титруют, т. е. находят наименьшую концентрацию раствора гиалуроновой кислоты, которая после инкубации в термостате дает ясно видимый сгусток при прибавлении уксусной кислоты (табл. 69).



Перемешивают, ставят в термостат при 37° на 15 минут. Охлаждают в течение 5 минут. Добавляют 2 капли 2 п уксусной кислоты. Осторожно смешивают растворы вращением пробирки. Читают результаты.

Таблица 69

Схема 1

№ пробирки	1	2	3	4	5
Субстрат в см <sup>3</sup> . . . . .	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Вода дистиллированная в см <sup>3</sup> . . . . .	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9

Обычно в пробирке № 1 бывает очень грубый специфический сгусток, причем вся жидкость проясняется. По мере дальнейшего разведения сгусток делается нежнее и в последней пробирке может быть в виде волокна.

После титрования субстрата в опыт берут наименьшую дозу, которая дает ясный характерный сгусток (рабочая доза).

Опыт ставится следующим образом: из 18—24-часовой агаровой культуры готовят взвесь в дистиллированной воде, соответствующую стандарту в 2 млрд. микробных тел в 1 см<sup>3</sup>. Объекты исследования другого характера, например, гной, раневой сок, разводят дистиллированной водой в 10 раз. Субстрат берут в рабочей дозе (например, 0,2 см<sup>3</sup>) (см. табл. 70).

Таблица 70

Схема 2. Проведение опыта

№ пробирки	1	2	3	4	5	6
Субстрат в см <sup>3</sup> . . . . .	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Вода в см <sup>3</sup> . . . . .	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8
Энзим <sup>1</sup> в см <sup>3</sup> . . . . .	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	Контроль

Перемешивают, ставят в термостат при 37° на 15 минут. Потом ставят на холод на 5 минут. Приливают 2—3 капли уксусной кислоты и осторожно смешивают вращением пробирок. Читают результат.

Результат. В случае наличия в исследуемой культуре или отделяемом раны активного фермента — гиалуронидазы — сгустки не образуются ни в одной пробирке, кроме № 6 (контроль). Если же активность гиалуронидазы невелика, то отсутствие сгустка будет наблюдаться лишь в 2 или 3 первых пробирках или могут быть сгустки меньшей величины, чем в контроле.

При отсутствии в изучаемом материале способности расщеплять субстрат во всех пробирках от уксусной кислоты получают одинаковые сгустки, т. е. реакция будет отрицательной.

Применяя эту реакцию в клинике, можно в некоторой степени характеризовать биологические процессы, происходящие в ране, и установить, в состоянии ли отделяемое раны (с микробами и тканевыми ферментами) способствовать расщеплению основного вещества межтканевой субстанции и тем самым содействовать проникновению в глубину тканей микробов и продуктов их жизнедеятельности.

<sup>1</sup> Энзим — испытуемый объект — взвесь микробов, гной и т. д.



При пользовании реакцией важно учесть следующие замечания:

1. При испытании культур микробов необходимо пользоваться только суточными агаровыми культурами. Если почему-либо нужно использовать культуру на жидкой среде, то эта среда сама по себе должна быть испытана предварительно или в опыте в качестве контроля. Пептон и панкреатин дают положительную реакцию.

2. Присутствие крови и плазмы тормозит реакцию.

3. При постановке реакции необходимо проверять серии субстрата с заведомо положительными штаммами (*B. perfringens*) и отрицательными (сапрофиты).

3) **Определение токсигенности.** Для определения токсигенности различных микробов пользуются бульонными культурами, выращенными в термостате в течение длительного срока (2—3 недели). Такую культуру фильтруют через свечи или фильтры Зейтца и фильтрат впрыскивают животным. Гибель их и обнаружение при вскрытии поражений, характерных для данного вида микробов, указывают на наличие токсина.

Токсигенность культуры выявляется также при внутрикожном введении микробов по образованию инфильтратов и некрозов на месте инъекции. Классическим примером такого испытания является определение токсигенности дифтерийной палочки на морской свинке (стр. 683).

Для изучения токсигенности стафилококков смыв агаровой культуры разводят до содержания 10 млрд. микробных тел в 1 см<sup>3</sup>; 0,2 см<sup>3</sup> взвеси вводят кролику внутрикожно (подготовку и методику инъекции см. стр. 738). Учет результатов производят через 24—48 часов.

4) **Определение токсичности.** В некоторых случаях возникает необходимость определить токсичность микробов, не продуцирующих экзотоксина. Для этой цели всегда пользуются взвесями убитых бактерий, которые впрыскивают чаще всего белым мышам. Смыв агаровой культуры, разведенной по стандарту, помещают на водяную баню при 60° на 30 минут. В дальнейшем поступают, как при испытании на вирулентность. Однако токсичность обнаруживается при значительно больших дозах микробных тел, чем вирулентность. Обычно вводят мышам внутрибрюшинно 500 млн. — 1 млрд. — 1½ и 2 млрд. бактериальных тел. Учет ведется по гибели животных. Токсической дозой считается такое количество микробов, от которого в течение 24—48 часов погибают все мыши, получившие эту дозу.

## ГЛАВА ШЕСТАЯ

### ИССЛЕДОВАНИЯ МАТЕРИАЛА С НЕОПРЕДЕЛЕННЫМ ВОЗБУДИТЕЛЕМ

Очень часто бактериологическая диагностика заболевания требует изучения микрофлоры доставленного материала в разных направлениях, чтобы выяснить этиологический фактор инфекции. Не только осложнения при различных заболеваниях, но и сами заболевания могут сопровождаться одними и теми же симптомами при разных возбудителях. К числу таких болезней относится сепсис, начальные стадии разных лихорадочных заболеваний, пищевые токсикоинфекции и т. п. Для распознавания этиологии и нахождения возбудителя при подобных заболеваниях не только усложняется бактериологическое исследование применением разнообразных сред для первичного посева, но используется комплекс методов: бактериоскопия, серология, испытание на животных.



## ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ЛИХОРАДОЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В это исследование входят следующие анализы: 1) посев крови на желчный бульон (среду Рапопорт или среду Блинкина) для выявления брюшного тифа или паратифов; 2) реакции агглютинации: реакции Видаля, Вейль-Феликса и Райта; 3) исследование мазка крови и толстой капли с целью обнаружения плазмодиев малярии, спирохет возвратного тифа; 4) подсчет лейкоцитарной формулы; 5) при подозрении на септическое заболевание можно также посеять кровь в среду Тароцци.

По своему назначению подобное исследование должно производиться в первые же дни лихорадочного заболевания и является одним из самых частых в разборочных отделениях больниц.

Кровь для этого исследования берут из вены обычным способом. Прежде всего наливают кровь в среду (или среды) для посева. Затем наливают 2—3 см<sup>3</sup> крови в стерильную пробирку для реакций агглютинации, и, наконец, капли, оставшиеся в игле после ее вынимания, используются для приготовления мазка и толстой капли.

В дальнейшем каждое исследование проводится в том порядке, как было описано выше.

Ответ по микроскопии мазков относительно плазмодиев малярии, спирохет возвратного тифа и лейкоцитарной формулы может быть выдан в тот же день или на следующий. На следующий же день выдается ответ по реакции агглютинации. Одновременно может быть дан предварительный ответ относительно результатов посевов: имеется ли рост микробов.

Окончательный ответ по гемокультурам дается через 5—7 дней, если посевы остались стерильными, а если выделены патогенные микробы, то до этого срока.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗВЕРЖЕНИЙ И КРОВИ ПОСТРАДАВШИХ ЛИЦ ПРИ ПИЩЕВЫХ ТОКСИКОИНФЕКЦИЯХ

Преобладающая часть пищевых интоксикаций имеет бактериальную этиологию. При этом нет оснований приписывать роль этиологического фактора одному виду или роду микробов. Различные виды микроорганизмов, патогенных, а иногда и условно патогенных, могут явиться причиной пищевого отравления при своеобразных условиях и массивности введенной дозы, которые создаются в пищевых продуктах, загрязненных в процессе приготовления или хранения. Наиболее частыми возбудителями пищевых токсикоинфекций являются микробы рода *Salmonella* (*B. typhi murium*, *enteritidis* Gärtneri, *supestifer*) и стафилококки. Однако описаны вспышки, вызванные протеем, палочкой Моргана, дизентерийными микробами (особенно часто палочкой Зонне), кишечной палочкой и ее атипичными разновидностями, стрептококками и другими микробами.

Материалом для исследования при пищевых токсикоинфекциях являются в клинике: а) рвотные массы потерпевших; б) промывные воды желудка; в) фекальные массы потерпевших; г) кровь потерпевших; при наличии смертных случаев берут из трупа содержимое желудка, тонких кишок, кусочки паренхиматозных органов и мезентериальных желез.

Кроме того, в санитарно-гигиенических лабораториях исследуются остатки пищи и смывы с инвентаря, оборудования и тары, находившихся в соприкосновении с подозрительной пищей.



Материал доставляют в лабораторию в стерильной закупоренной посуде. Пересылка должна происходить возможно быстрее; в противном случае объекты исследования помещают на лед.

Испражнения и рвотные массы густой консистенции разводят физиологическим раствором 1:10 и отстаивают. Жидкие материалы высевают без обработки. Промывные воды желудка центрифугируют и из них высевают осадок. Кровь засевают, как это описано для обнаружения брюшнотифозного микроба (ст. 685). Однако положительных результатов при чистой токсикоинфекции следует ожидать только при условии посева крови в первые сутки заболевания.

Бактериологическое исследование ведется в двух направлениях: 1) обнаружение микробов рода *Salmonella* и 2) изучение всей микрофлоры, с обращением внимания на присутствие патогенных кокков (стафилококков) и условно патогенных микробов (протей, палочки Моргана и др.).

Первая задача выполняется путем посева обработанного материала на цветные дифференциальные среды (Эндо, Левина, среду с конгоротом) и в среды обогащения, как это было описано при изложении методики обнаружения тифозных и паратифозных микробов.

В дальнейшем ходе исследования придерживаются в основном той же методики со следующими добавлениями:

1. В пестрый ряд обязательно добавляется пробирка с 15—20% желатиной, что позволяет отличить протей. Протей может иногда обнаруживаться в малоподвижной или неподвижной фазе (О-форма), которая симулирует свойства паратифозных или дизентерийных микробов.

2. В группу В-паратифозных микробов, имеющих общий антиген, входят *B. paratyphi* В и *B. typhi* murium, которые обладают одинаковыми биохимическими свойствами, но различаются по характеру колоний. Паратифозные В-колонии при стоянии образуют слизистый вал, колонии *B. typhi* murium вала не образуют. Колонии же *B. typhi* murium врастают в агар, что несвойственно *B. paratyphi* В. Для выявления этих признаков: а) изучаемую культуру высевают на чашки с простым агаром так, чтобы выросли изолированные колонии; после одних суток пребывания в термостате чашки оставляют на 3 суток при комнатной температуре; при наличии *B. paratyphi* В наблюдается образование вокруг колоний слизистых валиков, сильно преломляющих свет (рис. 378); б) с тех же чашек смывают рост бактерий физиологическим раствором. Если на чашке были *B. typhi* murium, то в местах роста колоний остаются изъёмы. После смыва *B. paratyphi* В поверхность агара оказывается совершенно гладкой.

3. Серологическая идентификация вида паратифозных микробов представляет нередко трудности, вследствие сложных сочетаний О- и Н-антигенов. Детально и точно такое исследование может быть осуществлено при помощи монорецепторных сывороток, каждая из которых содержит агглютинины только против одного антигена<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Наборы таких сывороток выпускает Ленинградский институт вакцин и сывороток.

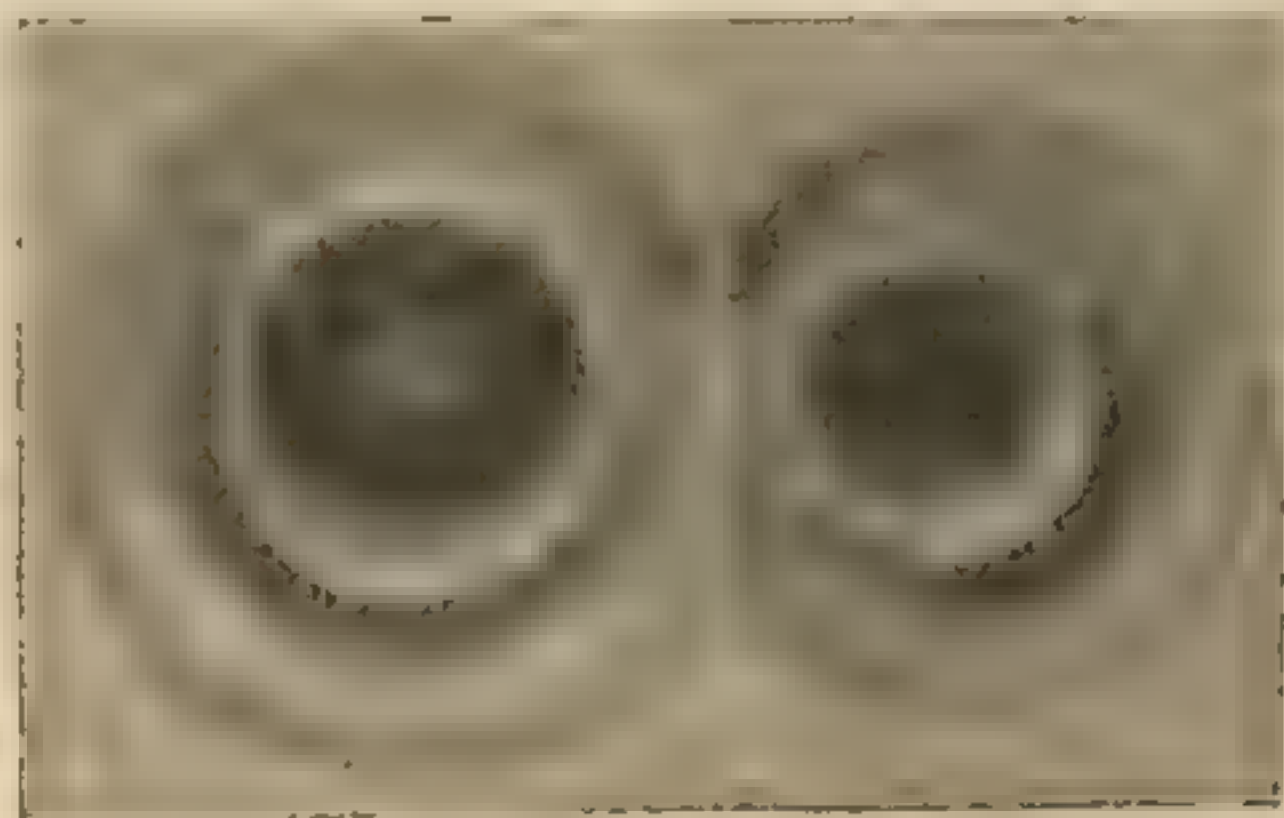


Рис. 378. Колонии палочки паратифа В; образование вала.



Ориентировочно можно определить принадлежность данного микроба к той или иной группе по Кауфману в реакции агглютинации (табл. 57 на стр. 686); если имеются сыворотки, то можно продолжить дифференциацию внутри группы по видам.

Принадлежность к группе определяется по соматическому (О) антигену. Для этого пользуются четырьмя агглютинирующими сыворотками, представляющими каждую группу, например, сыворотки: 1) паратифозная А, 2) паратифозная В, 3) паратифозная С (*suipestifer* или  $N_1$ ), 4) тифозная или  $N_2$ . В качестве антигена лучше всего пользоваться взвесью микробов, прогретой при  $100^\circ$  (кипяченный антиген). Чистую культуру на скошенном агаре смывают  $3-5\text{ см}^3$  физиологического раствора; смыв переносят в стерильную пробирку, помещают в кипящую водяную баню и кипятят в течение  $1\frac{1}{2}-1$  часа. Реакция агглютинации ставится, как описано при идентификации культур брюшнотифозных или паратифозных микробов, с каждой из четырех сывороток, но начиная с разведения сыворотки 1:40. В случае принадлежности культуры к одной из четырех групп получается положительный результат с сывороткой только этой группы. Иногда в низких разведениях может быть отмечена групповая агглютинация; однако она всегда получается в значительно более низких титрах, чем специфическая. Ответ формулируется следующим образом: «Выделена паратифозная палочка из группы.... (паратифа А, или В, или *suipestifer* и т. д.)».

Если испытуемая культура имеет все характерные признаки паратифозной, но не агглютинируется ни одной из четырех приведенных сывороток, то можно предполагать, что она относится к какой-либо из редко встречающихся групп. В этом случае культура должна быть передана в Институт микробиологии для точной идентификации. Ответ формулируется так: «Выделена культура из рода *Salmonella*, изучение продолжается».

Дизентерийные микробы определяются по схеме, приведенной в соответствующей главе.

Изучение прочей микрофлоры начинается с посева исходного материала на чашки с кровяным (см. «Обнаружение кокковой группы») и простым агаром. Выделяются и изучаются колонии стафилококков, протей и пр.

Таблица 71

Культуральные и ферментативные свойства рода *Escherichia*

Вид	Подвижность	Окраска по Граму	Лактоза	Глюкоза	Маннит	Мальтоза	Сахароза	Желатина	Сероводород	Индол	Лакмусовая сыворотка
<i>B. coli commune</i> . . . . .	++	—	+	+г	+	+	—	—	+	+●)	к
<i>B. coli communior</i> . . . . .	++	—	+	+г	+	+	+	—	+	+	к
<i>B. paracoli</i> I . . . . .	—	—	+	+г	+	+	++	—	+	++	к
<i>B. paracoli</i> II . . . . .	++	—	+	+г	+	+	+	—	+	++	к
<i>B. paracoli</i> III . . . . .	++	—	—	+г	+	+	++	—	+	++	к
<i>B. paracoli</i> IV . . . . .	++	—	—	+г	+	+	++	—	+	++	к
<i>B. paracoli</i> V . . . . .	—	—	—	+г	+	+	++	—	+	++	к

Условные обозначения. ●) — встречаются безиндольные штаммы; + ферментируется с образованием кислоты; ++ ферментируется непостоянно; г — образование газа; к — краснеет.



Стафилококки обнаруживаются на чашках с простым и кровяным агаром. Патогенные стафилококки часто обладают золотистым пигментом и гемолитической способностью. Остальные свойства описаны выше (стр. 677).

Стрептококки и энтерококки дифференцируют по описанной выше схеме (см. главу «Обнаружение стрептококков»).

По росту на кровяной чашке также выделяются гемолитические расы кишечной и паракишечной палочек. Выделенные культуры этих микроорганизмов исследуются по схеме, которая приведена в главе «Обнаружение микробов тифозно-паратифозной группы», за исключением серологической идентификации (табл. 71).

Для идентификации вульгарного протей достаточно убедиться в том, что выделена грамотрицательная резко подвижная палочка, разжижающая желатину и способная к быстрому распространению на поверхности питательной среды. Для обнаружения последнего свойства делают посев по Шукевичу: в пробирку со свежескопленным агаром вносят петлю культуры и растирают ее на дне в конденсационной воде, не касаясь агара. Протей очень быстро покрывает всю поверхность среды даже при стоянии посева на столе (табл. 72).

Таблица 72

Культуральные и ферментативные свойства рода *Proteus*

Вид	Подвижность	Окраска по Граму	Желатина	Глюкоза	Лактоза	Маннит	Мальтоза	Сахароза	Сероводород	Индол	Лакмусовая сывотка
<i>Proteus vulgaris</i> . . . . .	+	—	+	+г	—	—	±	±	+	+	с
<i>Proteus mirabilis</i> . . . . .	+	—	+	+г	—	—	+	—	+	—	с
<i>Proteus asiaticus</i> . . . . .	+	—	+	+г	—	+	+	—	+	±	к
<i>Proteus valerii</i> . . . . .	+	—	+	+г	—	+	+	—	+	+	к
<i>Proteus hydrophilus</i> . . . . .	+	—	+	+г	—	+	+	—	+	+	с
<i>Proteus morganii</i> . . . . .	+	—	—	+г	—	—	—	—	+	+	с

Условные обозначения. + ферментирует с образованием кислоты; ± ферментирует непостоянно; г — образование газа; к — краснеет; с — синее; — неизвестно.

Обилие в выделениях человека атипичных представителей даже обычной кишечной флоры заставляет предполагать загрязнение ими пищевых продуктов и интоксикацию продуктами распада бактериальной клетки, принятыми в пищу в массивных дозах. Поэтому детальное описание микрофлоры извержений человека при пищевых токсикоинфекциях имеет диагностическое значение, особенно при сопоставлении с результатами санитарно-бактериологического исследования пищевых продуктов.

Кровь для серологического исследования берется не раньше 10-го дня заболевания. Реакция агглютинации с сывоткой больного ставится с диагностикумами из представителей рода *Salmonella* (*S. typhi murium*, *S. enteritidis* Gärtneri, *S. suipestifer*, *S. paratyphi* A, B и *S. typhi abdominalis*). Если из извержений выделен какой-либо микроб, который присутствует в преобладающем количестве (иногда в чистой культуре), то его полезно ввести в реакцию в качестве дополнительного антигена. Методика постановки и учета реакции описана в главе «Серологические исследования».

Культуры, выделенные от больных токсикоинфекциями, полезно испытать в опыте на животных (биологическая проба). Особенно это важно



для *B. typhi murium* и условно патогенных микробов (протей, кишечная палочка и др.), которые нередко токсичны для белых мышей при скормливании (методику см. стр. 740).

Рекомендуется испытать токсичность выделенной культуры стафилококка кормлением котят ( $1\frac{1}{2}$  —  $2\frac{1}{2}$  месяцев) суточной культурой (бульонной или молочной) в количестве 10—15 см<sup>3</sup>. После приема токсичных микробов у котят наступает рвота, иногда понос и общая прострация.

## ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ, РАНЕВОГО ОТДЕЛЯЕМОГО, ГНОЯ, ЭКССУДАТОВ И ТРАНССУДАТОВ

При исследовании крови, экссудатов и транссудатов без заведомого указания на предполагаемого возбудителя (на стерильность) посев следует производить в среду Тароцци как наиболее благоприятную для роста разнообразных микробов. При отсутствии этой среды можно пользоваться сахарным бульоном или бульоном с 5—10% асцитической жидкости или нормальной сыворотки (человеческой, кроличьей или лошадиной). Последние прибавляются только после проверки на стерильность посевом в пробирки простого и сахарного бульона. Асцитическая жидкость и нормальная сыворотка хранятся в леднике и стерильно добавляются в колбы и пробирки с бульоном, после чего последний проверяется на стерильность в термостате в течение одних суток.

При посеве значительных количеств крови и других объектов белковой природы (при отношении 1:10 частей бульона) эти субстраты сами повышают питательность среды, и поэтому можно пользоваться просто сахарным бульоном.

Следует помнить, что при росте микробов, ферментирующих глюкозу с образованием кислоты, последняя накапливается в питательной среде и губительно действует на микробов. Поэтому высеив с сахарного бульона следует производить уже через сутки (первый раз) и через двое суток (второй раз) после посева.

Высев из первичного посева производят на кровяной агар; одновременно из первичного посева готовят мазки, которые окрашивают по Граму. Дальнейшее исследование проводят соответственно микроскопической характеристике выделенных культур.

Исследование гноя, раневого отделяемого, кусочков грануляционный ткани ведется в направлении обнаружения как анаэробных, так и аэробных бактерий.

Для исследования анаэробной флоры материал берется из глубины раны с разных участков и должен включать размозженную ткань, осколки костей и посторонние частицы, внесенные при травме извне (обрывки одежды, осколки снарядов и пр.). Гной может не содержать анаэробов.

Из исходного материала готовятся мазки, которые окрашиваются по Граму и тщательно изучаются. Одновременно исследуется раздавленная капля из мышечного сока, желательного в темном поле зрения.

В анаэробных условиях материал высеивается на: а) 2 пробирки или 2 флакона со средой Тароцци; одна пробирка (флакон) высеивается из материала, подогретого на водяной бане при 60° в течение 30 минут, другая пробирка (флакон) засеивается непрогретым материалом; б) пробирку со средой Робинзон-Стовалл и, если возможно, в) кровяные чашки (3), которые помещаются в анаэробные условия (анаэроостат, эксикатор)

Для быстрого роста следует пользоваться термостатом на 42°.



При небольшом количестве анаэробных микробов в исследуемом материале рост может получиться только на среде обогащения (Тароцци). Поэтому на следующий день со среды Тароцци исследуются мазки, окрашенные по Граму, и раздавленная капля. При подозрении на наличие анаэробов из среды Тароцци делают те же высевы, что и в первый день. Кроме того, производится посев по методу Вейона.

В аэробных условиях первичный посев производится на: а) сахарный бульон, б) кровяную чашку, в) свернутую сыворотку, г) среду Эндо или Левина и д) простой агар. При отсутствии кровяных чашек посев можно сделать на агар Бейли или асцит-агар, или формол-сывороточный агар. Высев с сахарного бульона производится на те же среды. Дальнейшее исследование ведется по общепринятой методике, как при обнаружении кокковой группы.

С дифференциальных сред и простого агара ведут дальнейшее исследование в направлении обнаружения кишечных микробов, протей и синегнойной палочки (*B. proteus*). Последняя легко определяется по наличию зеленого, серо-зеленого или сине-зеленого пигмента, который диффундирует в питательную среду и окрашивает ее. Иногда выделение пигмента задерживается. Тогда следует выделить колонию на простой агар и оставить на 2—3 дня при комнатной температуре. Синегнойная палочка очень подвижна, красится по Граму отрицательно, растет на простом агаре обильным слизистым налетом.

В случаях упорного, длительного течения нагноения ран при наличии грязносерых налетов возникает необходимость исследования раневого отделяемого на присутствие дифтерийных палочек. Такое исследование производится по специальному требованию лечащих врачей или если при микроскопии мазков из гноя обнаруживаются микроорганизмы, морфологически сходные с дифтерийной палочкой. В таком случае можно специально снять налет тампоном и посеять на свернутую сыворотку или на ту же среду нанести и тщательно втереть в нее гной, присланный в пробирке.

Дальнейший ход исследования ничем не отличается от описанного выше (глава «Обнаружение дифтерийных палочек»). Однако в случае выделения из отделяемого раны культуры, подозрительной на дифтерийную, обязательно испытание ее на морской свинке на вирулентность, так как на коже обитают в большом количестве сапрофитические дифтероиды.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ОТДЕЛЯЕМОГО ГЛАЗА

При различных поражениях глаза пользуются бактериоскопическим и бактериологическим исследованием отделяемого с края век, из конъюнктивального мешка, из слезных путей, иногда с роговицы.

1) **Взятие материала.** Обычно материал берут прокаленной и остуженной петлей. При взятии с края век предварительно удаляют корки, затем петлей (прокаленной и охлажденной) захватывают материал с пораженных участков. Чтобы взять отделяемое из конъюнктивального мешка, больному предлагают смотреть вверх, нижнее веко оттягивают и петлей набирают каплю слезы или гноя. Если имеются видимые поражения слизистой оболочки, материал надо взять из этих мест. При заболевании слезных путей надавливают слезный мешок и набирают петлей гнойный или слизистый секрет, который выделяется из слезных точек. Материал с роговицы набирают с большой осторожностью. Это должен производить врач-окулист.



При таких инфекциях глаза, когда возбудитель гнездится в эпителиальных клетках (трахома, бленоррея, банный конъюнктивит), следует брать материал не петлей, но методом соскоба. При этом плагиновым шпателем или краем шлифованного покровного стекла надавливают и скабливают эпителий.

Взятый материал переносят на питательные среды и остаток распределяют тонким слоем по предметному стеклу.

2) **Бактериоскопическое исследование.** Препараты высушивают, фиксируют, окрашивают слабым раствором синьки или разведенным фуксином и по Граму. В мазках можно обнаружить ряд микробов, из которых заслуживают внимания следующие.

**Грамположительные**

Стафилококк  
Пневмококк  
Стрептококк  
Палочка ксероза  
Палочка дифтерии  
Сенная палочка

**Грамотрицательные**

Палочка Кох-Уикса  
Диплобацилла Моракс-Аксенфельда  
Палочка Пфейфера  
Гонококк  
Катарральный микрококк  
Кишечная палочка  
Пневмобацилла Фридлендера (встречается редко)

3) **Бактериологическое исследование** в практике лечения глаз применяется: а) при смешанных инфекциях; б) при редких формах заболевания; в) для определения флоры нормальной конъюнктивы перед назначением на операцию.

При смешанных инфекциях и при редких формах заболевания глаза производят посевы материала, взятого, как описано выше, на сывороточный бульон и на агар Левинталя или свернутую сыворотку.

С нормальной конъюнктивы сеют на сывороточный бульон. На пробирке делают надпись, с какого глаза взят материал. Результаты посевов изучают через 20—24 часа и через 48 часов после пребывания их в термостате при 37°. Приготавливают и окрашивают мазок, как обычно. Дальнейшее исследование ведется соответственно обнаруженной микрофлоре.

Среди микробов, которые встречаются на нормальной конъюнктиве, чаще всего обнаруживаются следующие.

а) **Палочка ксероза** (*Corynebacterium xerosis*). Принадлежит к тому же роду, что и дифтерийная палочка (*Corynebacterium diphtheriae*). Морфологически оба микроба очень схожи. В палочке ксероза также можно обнаружить зерна Бабеш-Эрнста при окраске по Нейссеру. Однако они образуются позднее, чем у дифтерийной палочки, не раньше, чем через 20—24 часа роста.

Микроб хорошо растет на сывороточном бульоне, дает придонный крошковатый рост. На свернутой сыворотке растет медленно, сухими колониями.

б) **Стафилококк.** Чаще всего мало вирулентный, что определяется по отсутствию коагуляции плазмы, гемолитической способности и пигмента.

в) **Пневмококк.** Описание см. в главах «Мокрота» и «Биологические методы исследования».

Описанные виды микробов встречаются и при различных поражениях глаза. Из микробов общей микробной флоры в больном глазу обнаруживаются следующие.

г) **Дифтерийная палочка.** Вызывает тяжелые поражения глаза. При подозрении на дифтерию глаза обязательно исследовать отделяемое носа и зева одновременно с посевом из конъюнктивального мешка. Ввиду



наличия частого обитателя глаза — палочки ксероза, нельзя ставить диагноз по бактериоскопическому исследованию. Бактериоскопия дает право только на ориентировочный ответ. Бактериологическое исследование производится, как описано выше. Рекомендуется поставить пробу на вирулентность на морской свинке.

д) **Гонококк**. Заболевание, вызванное гонококком, носит название блenorреи; оно протекает бурно, с обильным образованием гнойного секрета. Еще сравнительно недавно оно очень часто наблюдалось у новорожденных, заражавшихся при прохождении через половые пути. Проводимое повсеместно профилактическое введение препаратов серебра в конъюнктивальный мешок новорожденных снизило заболеваемость до единичных случаев. Однако инфицироваться могут не только новорожденные, но также и дети в первые годы жизни.

Для исследования готовят 2 препарата. Одни окрашивают разведенной метиленовой синькой, другой — по Граму. Гонококк по Граму обесцвечивается (описание морфологии гонококка см. «Возбудители венерических заболеваний»). В гное из глаза могут встречаться другие грамотрицательные диплококки (катарральный микрококк), очень сходные с гонококками. Поэтому следует обращать особое внимание на расположение кокков внутри гнойных клеток (фагоцитоз), что является характерным для гонококка.

Посев производят на асцитический бульон. Кроме того, так как необходимо дифференцировать гонококк от катаррального микрококка, следует посеять исследуемый материал на простой агар и оставить его при комнатной температуре на сутки. Катарральный микрококк, в противоположность гонококку, растет и в таких условиях.

Микробами, свойственными только глазу, являются следующие.

е) **Палочка Кох-Уикса** — возбудитель острозаразного конъюнктивита. При исследовании отделяемого находят маленькие тоненькие палочки, лежащие внутри полинуклеарных лейкоцитов, эпителиальных клеток и между ними (рис. 379). Свободно лежащие палочки нередко образуют кучки, но могут встречаться и поодиночке. Длина палочек чаще всего равна 0,5 — 1  $\mu$ ; реже встречаются длинные экземпляры — до 3  $\mu$ ; короткие палочки нередко лежат по 2, образуя как бы коротенькие цепочки. Концы палочек закруглены. Обычно в препарате других микроорганизмов не видно; все же иногда, наряду с ними, видны отдельные кокки или же палочки ксероза. Палочка Кох-Уикса по морфологическим и культуральным признакам, а также серологическим свойствам очень близка к палочке инфлюэнцы Пфейфера. Вопрос о тождестве этих двух микроорганизмов служил темой многочисленных исследований, но до настоящего времени не может считаться окончательно решенным.

Палочка Кох-Уикса хорошо растет на сывороточном и асцитическом бульоне и на агаре Левинталя. Непатогенна для животных, чем отличается от палочки Пфейфера.

ж) **Диплобацилла Моракс-Аксенфельда**. Диплобацилла Моракс-Аксенфельда является возбудителем подострого воспаления конъюнктивы, локализующегося преимущественно в углах глаза и поражаю-

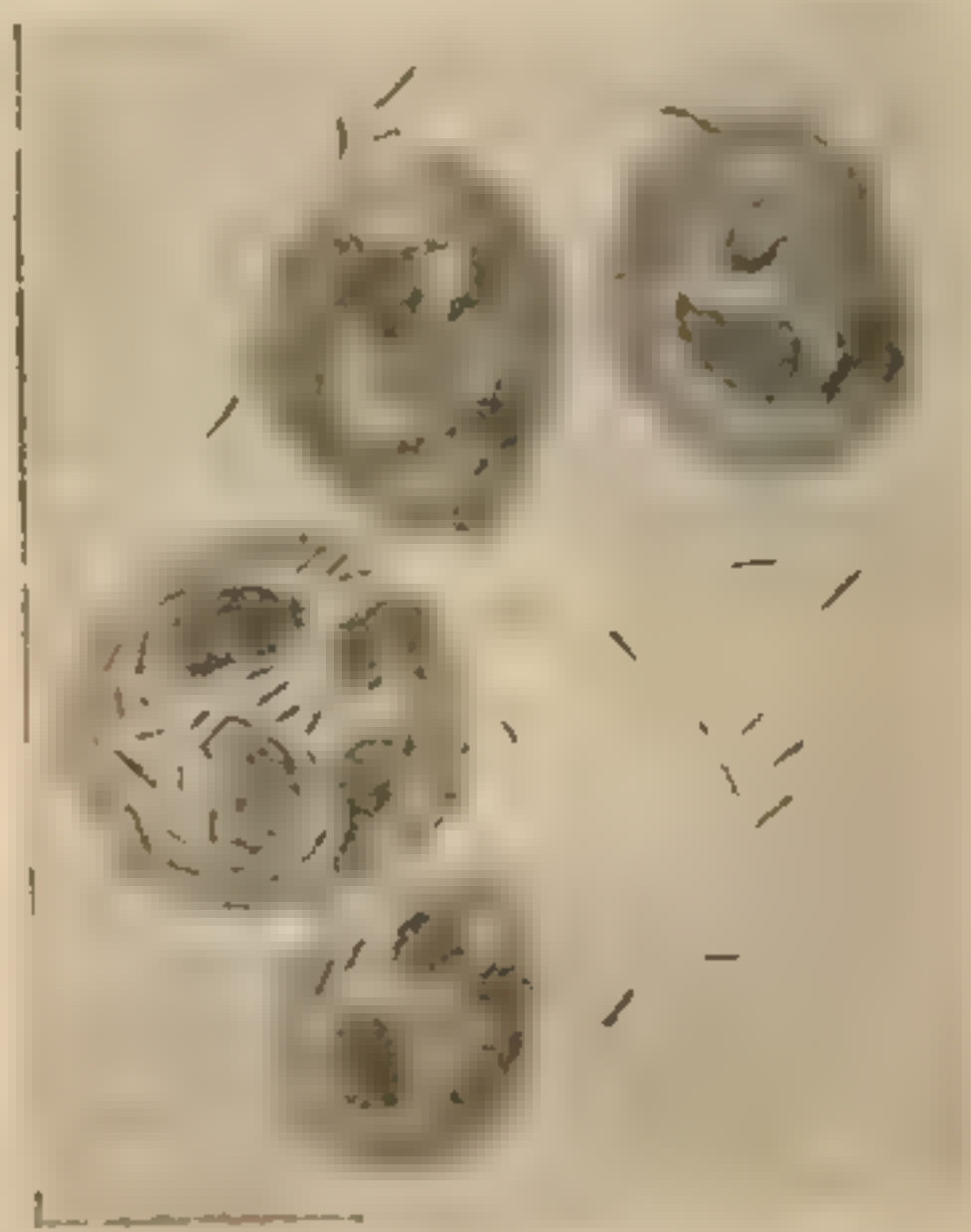


Рис. 379. Палочки Кох-Уикса.



щего одновременно кожу и конъюнктиву век (*Blepharoconjunctivitis angularis*).

В легких случаях отделяемого очень мало и оно не имеет гнойного характера; нередко только на слезном мясце находят немного сероватой слизи. В таких случаях обычно, наряду с диплобациллой, имеется очень много сапрофитов. Морфология диплобациллы Моракс-Аксенфельда все же настолько характерна, что диагноз не представляет затруднений.

Диплобацилла представляет собой толстую короткую палочку, расположенную попарно, иногда она образует короткие цепочки. Бациллы частью лежат свободно, частью на эпителиальных клетках, причем нередко покрывают собой всю клетку. Явления фагоцитоза здесь наблюдаются редко, так как секрет содержит мало лейкоцитов. Длина бациллы (2 — 3  $\mu$ ) лишь незначительно превышает толщину (1 — 1,5  $\mu$ ); края ее несколько закруглены, так что тело бациллы представляет коротенький, несколько притупленный прямоугольник. Бацилла неподвижна, легко окрашивается анилиновыми красками, по Граму обесцвечивается; капсулы не образует, чем отличается от сходной с ней диплобациллы Фридлендера (рис. 380). Хорошо растет на свернутой сыворотке, которую разжижает на 3-й день роста.

Кроме бактерий, в мазке из соскоба можно обнаружить особые включения в эпителиальных клетках. При окраске по Гимза внутри клеток вблизи ядра видны зерна синего или темнофиолетового цвета, располагающиеся компактно в виде шапочки. Включения характерны для трахомы, банного конъюнктивита и некоторых форм бленнореи новорожденных.

## ИСПЫТАНИЕ НА СТЕРИЛЬНОСТЬ ХИРУРГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА И НА ЧИСТОТУ СМЫВОВ С ПРЕДМЕТОВ, ИНСТРУМЕНТОВ И ПРОЧЕЕ

1) Общие указания к методике исследования. Испытание хирургического материала на стерильность является одной из обязанностей бактериологической лаборатории. Систематическая проверка материалов, стен, рук обслуживающего персонала создает, с одной стороны, уверенность в работе хирурга, с другой — во-время сигнализирует о неблагополучии на каком-либо участке подготовки к операции, позволяя своевременно выявить этот участок и принять необходимые меры.

Исследованиям подвергаются: 1) готовый стерильный материал: а) марлевые салфетки — выборочно, б) тампоны — выборочно, в) вата — выборочно, г) кетгут — каждая новая партия, а при длительном употреблении одной и той же — повторно, д) шелк — каждая партия; 2) инструментарий, готовый к операции; 3) смывы со стен, столов операционной после подготовки к работе и после работы; 4) посевы воздуха в операционных и других помещениях; 5) смывы с рук, подготовленных для операции.

Бактериологическое исследование хирургического материала на стерильность требует выполнения ряда условий во избежание загрязнения во время посева.

Посев производится в боксе, в котором после уборки не производилась работа; его следует специально подготовить пропариванием. Пропаривание бокса можно осуществить различными способами. Проще всего в боксе на нагревательном приборе установить сосуд с 2—3 л воды и кипятить воду до наполнения бокса паром. Можно наполнить бокс паром, проведя в него трубку от текучепарового аппарата или автоклава и спускающая пар через эту трубку. По окончании обработки бокс запирают на  $1\frac{1}{2}$  — 1 час, и только после осаждения капелек влаги, захвативших с собой



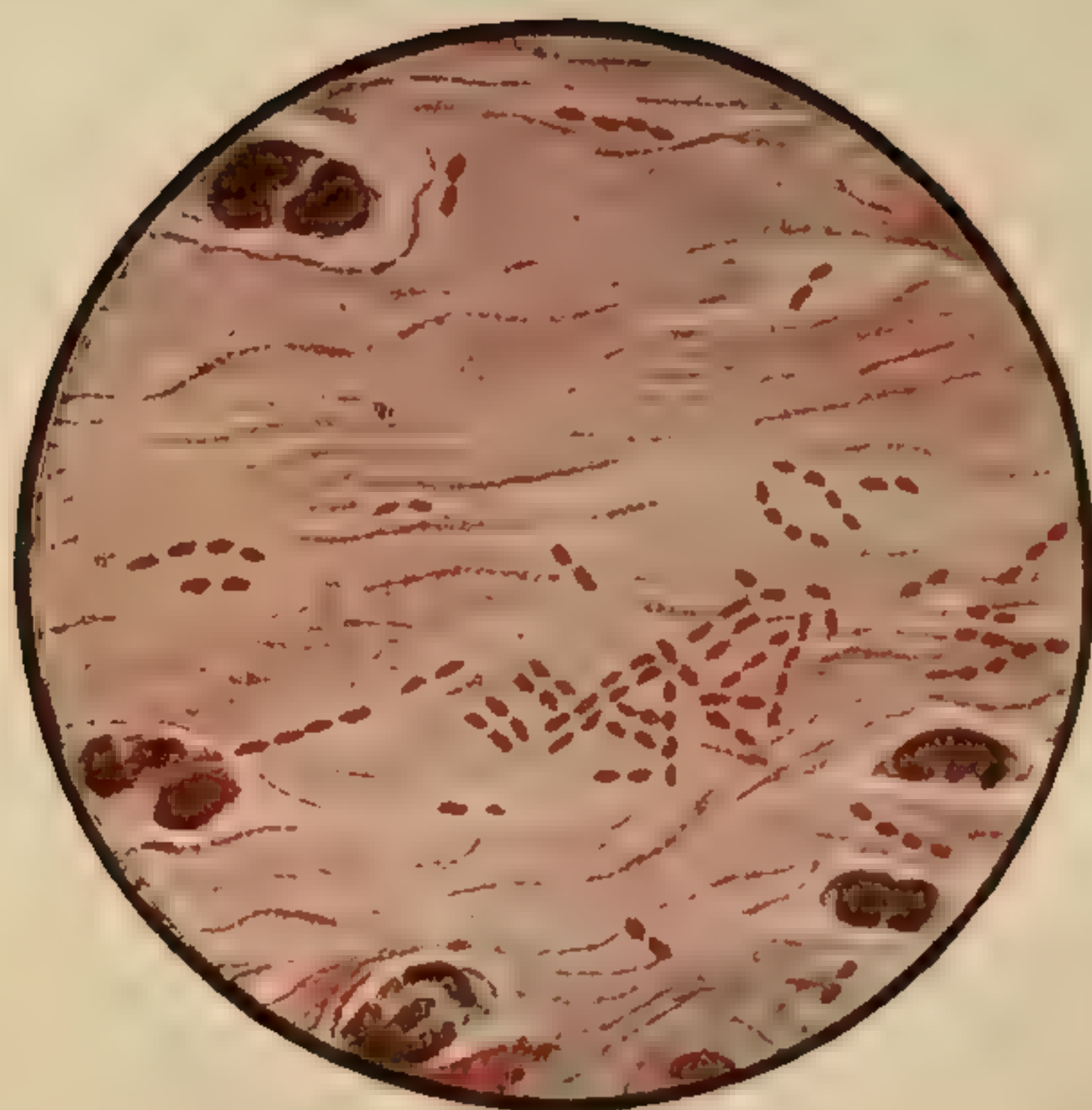


Рис. 380. Палочки Моракс-Аксенфельда.







частицы, взвешенные в воздухе, и микробов, можно начинать работу. Все необходимое для работы заготовляют заранее и в один прием вносят в бокс. Сотрудники, производящие посев, заранее моют руки, надевают халаты, шапочки и стерильные марлевые маски. Никакие разговоры в боксе во время работы не допускаются; не разрешается и многократное хождение из бокса и обратно.

Для посева пользуются стерильным инструментарием: 1) ножницы (2 пары), 2) длинный гистологический пинцет или корнцанг, 3) 2—3 анатомических пинцета, 4) 2—3 пинцета Кохера или Пеана.

Инструменты кипятят, как обычно, в 1% растворе соды и вносят в бокс в закрытом стерилизаторе. Если по ходу работы приходится пользоваться инструментом повторно (что нежелательно), то его погружают в спирт и проводят через пламя горелки.

Производят посев материала для аэробного роста на бульон с 1% глюкозы ( $pH = 7,4 - 7,6$ ), для анаэробного — на среду Тароцци. Среду Тароцци перед засевом обязательно регенерируют (кипятят 15 минут на водяной бане и охлаждают до  $40^\circ$ ). Среды должны быть заготовлены в широких пробирках (2,5 — 3 см в диаметре) по 40—50 см<sup>3</sup> (или в колбах).

Из аэробного посева делают высев на кровяные и дифференциальные чашки и мазки, которые окрашивают по Граму. Из анаэробного посева высевают на косой агар, в пробирки Вейона и просматривают раздавленную каплю и мазки, окрашенные по Граму.

2) **Выемка материала и методика его посева.** Из марлевых салфеток и пластов стерильной ваты вырезают кусочки из разных мест и опускают в пробирки с питательной средой. Тампоны опускают в среду целиком или, если они велики, от них также отрезают кусочки для посева. Из каждого барабана засевают не меньше трех проб.

Каждую партию окончательно подготовленного для работы кетгута или шелка испытывают на стерильность. При пользовании ампульным кетгутом выборочно испытывают по 3 ампулы каждой серии. Из кетгута, обработанного на месте, вырезают куски из разных мест.

Для нейтрализации иода, в спиртовом растворе которого сохраняется кетгут, последний выдерживают 24 часа в стерильном 10% растворе гипосульфита (разливают в колбочки по 20—30 см<sup>3</sup> и стерилизуют текущим паром 3 дня по 30 минут). Из раствора гипосульфита кетгут перекадывают в колбочки с 50 см<sup>3</sup> стерильной дистиллированной воды и также выдерживают 24 часа. Непосредственно перед засевом кетгут разрезают на кусочки не больше 1 см и раздвигают, чтобы дать возможность прорасти микробам или их спорам, сохранившимся в глубине нити. Все эти манипуляции совершаются при строжайшем соблюдении правил асептики.

В каждую пробирку (флакон, колбу) с сахарным бульоном и средой Тароцци вносят по 3—5 кусочков нарезанного и растрепанного кетгута. Посевы оставляют в термостате на 10—14 суток. При обнаружении макроскопического роста пересевы и просмотр мазков производят раньше.

Шелк и нитки, сохраняющиеся в спирту или дезинфицирующих растворах, отмывают в стерильной дистиллированной воде, нарезают кусочками по 1 см и засевают в сахарный бульон и среду Тароцци, как указано для кетгута.

Инструменты, подготовленные к операции, проверяют выборочно для контроля стерилизации или по специальным показаниям. Для посева инструмент опускают в пробирку с бульоном и ополаскивают. Необходимо помнить о соблюдении строжайших правил стерильности. Если в первые дни рост не обнаруживается, то посевы оставляют в термостате на 10—14 суток и в дальнейшем обрабатывают, как указано выше.



Смывы со стен, столов и предметов оборудования производят выборочно для контроля чистоты операционной до работы в ней и после операции или по специальным показаниям. Стерильным марлевым тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором и захваченным стерильным пинцетом, проводят по предметам, которые проверяют. Затем тампон опускают в питательную среду. Исследование ведется далее, как описано выше. Однако здесь необходимо доводить анализ до полной идентификации микробов, так как присутствие воздушных сапрофитов допускается в пределах, указанных ниже для воздуха.

Посевы воздуха производятся с той же целью, как указано для инструментов. На столах, шкафах, табуретках ставят открытые чашки с кровяным или простым агаром. Согласно заданию, в помещении продолжается обычная работа или она прекращается. Однако во всех случаях следует запретить излишнее движение, хлопанье дверьми и пр. Чашки подвергают экспозиции в течение 30 минут в операционной, 5—10 минут в палатах, затем закрывают, тщательно надписывают, обозначая место экспозиции (высота воздушного слоя), и помещают при температуре  $22^{\circ}$  на 5 суток. Число колоний подсчитывают обычным способом. Микробы, выросшие на чашках, дифференцируют. Присутствие патогенных, в том числе гнилостных (протей, синегнойная палочка и пр.), микробов недопустимо. В воздухе операционной до начала работы допускается наличие не более 20 колоний воздушных сапрофитов на чашке. Повторные исследования одного и того же помещения по этому методу дают хорошие сравнительные показатели. При специальных заданиях, когда требуются абсолютные данные о загрязнении воздуха, следует пользоваться аспирационными методами.

Смыв с рук персонала, подготовившегося к операции, производится с контрольной целью или по специальному заданию.

Материал забирают стерильным марлевым тампоном на пинцете. Тампон смачивают стерильным физиологическим раствором. Отдельно обмывают ногтевые ложа, подногтевые пространства, концы пальцев, ладонную и тыльную поверхность рук. Тампоны отдельно или вместе, в зависимости от задания, опускают в сахарный бульон; посевы оставляют при  $37^{\circ}$  на 5 суток. Высевы производят на кровяные чашки, простой агар и дифференциальные среды для кишечной группы микробов. Присутствие патогенных, гнилостных, кишечных микробов недопустимо. Допускается присутствие в 1—2 пробах одного вида воздушных сапрофитов.

АЛЛЕРГИ

Кожные реакции при  
аллергии на большей части  
тела и на конечностях.

Техника внутри  
кожных проб на коже нару  
оживают на предплечьях.  
поверхности предплечья.  
поверхности при закл  
очисти кожи спиртом  
и, лучше,  
1,1 см<sup>2</sup> аллерген  
поверхности к  
и войти в кожу  
и просвечива  
становится невид  
малая папула.

Техника собствен

1) Туберкулез.

реакций и до насто

На кожу стига  
ребенка на любом  
ном, наносят пипет  
несколько сантим  
тора — 0,5% рас  
содержащем 5%  
контрольный рас  
наблю контроль  
две поверхност  
вивательной и  
лимфатическ  
стирают марле  
сов. При по  
окруженная с  
пулы произв  
аменте не с  
исчезает. К  
дражения, и  
Реакци  
ней — при

Шари



## ОТДЕЛ ОДИННАДЦАТЫЙ КОЖНЫЕ РЕАКЦИИ

### АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ КОЖНЫЕ РЕАКЦИИ

Кожные реакции представляют собой проявление местной аллергии. Аллерген большей частью вводится внутрикожно и значительно реже применяется на кожную поверхность.

**Техника внутрикожных реакций.** Реакцию большей частью производят на коже наружной стороны плеча, реже на коже сгибательной поверхности предплечья. Необходимо избегать перетяжки кожи, нередко получающейся при закатывании рукава кверху. После предварительной очистки кожи спиртом, эфиром или бензином, при помощи однограммового или, лучше, туберкулинового<sup>1</sup> шприца вводят под эпидермис 0,1 см<sup>3</sup> аллергена. Иглу шприца при инъекции держат параллельно поверхности кожи отверстием кверху. Бородка иглы должна целиком войти в кожу, при правильной технике отверстие ее до введения жидкости просвечивает через эпидермис; в момент введения жидкости оно становится невидимым, и на месте укола появляется маленькая беловатая папула.

Техника собственно кожных реакций — следующая.

1) **Туберкулез.** а) Реакция Пиркетта (1907) — самая старая из реакций и до настоящего времени самая популярная.

На кожу сгибательной стороны предплечья (или при резком протесте ребенка на любом другом участке кожи), очищенной эфиром или бензином, наносят пипеткой каплю цельного старого туберкулина Коха, а на несколько сантиметров ниже каплю так называемого контрольного раствора — 0,5% раствора карболовой кислоты в физиологическом растворе, содержащем 5% глицерина (за неимением глицерина можно приготовить контрольный раствор и без него). Затем через обе капли (сначала через контрольный раствор и без него). Затем через каплю туберкулина) делают две поверхностные линейные скарификации тупым ланцетом или оспопридавательной иглой. Скарификациями вскрываются лишь поверхностные лимфатические, но не кровеносные сосуды. Через 6—8 минут туберкулин стирают марлей или ватой. Учет реакции производится через 24—48 часов. При положительной реакции образуется папула диаметром до 1 см, окруженная более или менее широкой зоной гиперемии. Измерение папулы производится миллиметровой линейкой. Реакция менее 0,5 см в диаметре не считается положительной. Через 5—6 дней реакция обычно исчезает. Контрольная скарификация, кроме явлений механического раздражения, изменений не показывает.

Реакция считается слабой, если диаметр папулы около 0,5 см, средней — при диаметре около 1 см и сильной — при диаметре свыше 1 см.

<sup>1</sup> Шприц емкостью 1 см<sup>3</sup> с делениями на сотые доли.



В некоторых случаях, преимущественно у взрослых, применяют, кроме цельного туберкулина, еще серию разведений — 30, 10 и 3% разведение. Разведения изготовляют при помощи обычного однограммового шприца. Разводящей жидкостью служит контрольный раствор. Шприц и контрольный раствор должны быть простерилизованы. Разведения и контрольный раствор хранятся во флаконах-капельницах, предварительно стерилизованных.

При работе с разведениями критерием положительной реакции являются возрастающие диаметры папул соответственно возрастающим концентрациям туберкулина.

**Диагностическое значение.** Положительная реакция говорит лишь о том, что организм инфицирован туберкулезом, но не доказывает наличия активного процесса. Поскольку во взрослом возрасте почти все люди инфицированы, проба у взрослых практически лишена значения. В детском же возрасте значение ее очень велико: у грудных и маленьких детей она говорит не только об инфицированности, но и о наличии активного туберкулезного процесса.

**б) Реакция Манту — внутрикожная реакция.** Она производится в случаях отрицательной реакции Пиркетта. Изготавливается ряд разведений старого туберкулина 1:10; 1:100; 1:1000 и т. д. Для разведения берут тот же контрольный раствор, что и для реакции Пиркетта. Готовят разведения при помощи двух градуированных стерилизованных пипеток: одной — на 10 см<sup>3</sup> для контрольного раствора, другой — на 1 см<sup>3</sup> для туберкулина.

Схема разведений:

1:10	— 1 см <sup>3</sup> туберкулина	+ 9 см <sup>3</sup>	контрольного раствора
1:100	— 1 см <sup>3</sup> разведения	1:10 + 9 см <sup>3</sup>	»
1:1000	— 1 см <sup>3</sup>	» 1:100 + 9 см <sup>3</sup>	»
1:10000	— 1 см <sup>3</sup>	» 1:1000 + 9 см <sup>3</sup>	»

и т. д.

Разведения готовят и хранят в стеклянных флаконах с притертыми пробками, предварительно простерилизованных.

В качестве начального разведения применяют четвертое, т. е. разведение 1:10000.

**Производство реакции.** Кожу (лучше всего передней поверхности плеча) очищают, как и при реакции Пиркетта, фиксируют снизу левой рукой и, вводя иглу, как описано выше, впрыскивают 0,1 см<sup>3</sup> туберкулинового раствора. Осмотр производят через 24 и 48 часов.

Положительная реакция выражается в появлении инфильтрата (папулы) обычно с гиперемией, размером свыше 0,5 см в диаметре. При отрицательном результате реакции через 24 и 48 часов рекомендуется тотчас повторить ее с более концентрированным разведением. Повторение реакции с растворами возрастающей концентрации производят вплоть до второго разведения (1:100). В редких случаях, когда и второе разведение дает отрицательный результат, можно исследовать чувствительность к первому разведению и неразведенному туберкулину. В последнем случае необходимо одновременно в качестве контроля внутрикожно вводить 0,1 см<sup>3</sup> бульона (пользуясь отдельным шприцем и иглой).

**в) Кожнопластырная проба Волпера.** Метод состоит в наклеивании на неповрежденную поверхность кожи полоски липкого пластыря, на клеевой поверхности которого помещены 3 квадрата марли, два из которых пропитаны неразведенным туберкулином, а третий (контрольный) — индифферентным бульоном. Давлением ладони наклеивают полоску на любой участок кожи после тщательного очищения ее от жи-



ровой смазки эфиром или ацетоном и оставляют на 48 часов, после чего снимают. В положительном случае на участках кожи, к которым прилежали марлевые квадратики, пропитанные туберкулином, ясно выражено точечное или сплошное покраснение с отдельными или сливающимися пузырьками и припухлость. Под контрольным квадратиком кожа остается бледной. Интенсивность реакции может быть различной: слабая (+), средняя (++) и сильная (+++). Нередко реакция проявляется не через 48 часов, а спустя 1—2 суток после снятия пластыря, так что необходим дополнительный осмотр в эти сроки.

Всасывание туберкулина при этой реакции происходит вследствие мацерации эпителия под липким пластырем. Реакция по чувствительности не уступает, а даже превосходит реакции Пиркета и Манту. В СССР она была проверена Карповым и Липкиной<sup>1</sup>. Способ крайне прост и не причиняет неприятностей больному.

2) **Бруцеллез.** Реакция носит название пробы Бюрне. Бруцеллин (мелитин) изготавливается в СССР в специальных лабораториях из культур бруцеллезной палочки.

Проба производится строго внутрикожно; вводится 0,1 см<sup>3</sup> бруцеллина лучше всего в кожу ладонной поверхности предплечья. Положительная реакция начинает появляться через 6—8 часов и держится 40—50 часов. Учет реакции производится через 24 часа. В положительных случаях отмечено появление болезненной отечности, красноватой или бледной, которая лучше всего определяется ощупыванием места инъекции большим и указательным пальцами, которыми кожа на месте инъекции приподнимается в виде складки. Болезненность и покраснение, обычно сопровождающие отек, наблюдаются не во всех случаях. Размер отека варьирует, в среднем он составляет около 4×6 см.

При протоколировании отмечают размер отека в сантиметрах (длину и ширину), степень болезненности и окраску. Наличие выраженного отека при отсутствии отека на месте введения контрольного бульона считается положительной реакцией Бюрне. Отсутствие болезненности и изменения цвета, обычно сопровождающих отек, не исключает положительной оценки пробы.

Реакция в начале заболевания иногда бывает отрицательной и становится положительной лишь ко времени вполне развившегося заболевания, одновременно с положительной реакцией агглютинации. Положительный результат является доказательным даже при отрицательной реакции агглютинации. Он может (в 6—10% случаев) наблюдаться при отсутствии клинических проявлений бруцеллеза. Кожная аллергия держится годами после клинического выздоровления. Отрицательный результат указывает на отсутствие аллергии, но не исключает инфекции.

3) **Туляремия.** Аллерген — тулярин, эмульсия из убитой культуры *B. tularensis*, изготавливаемая в специальных лабораториях. Проба, как и на бруцеллез, производится строго внутрикожно на ладонной поверхности предплечья, вводится 0,1 см<sup>3</sup> тулярина. В положительных случаях наблюдаются гиперемия и отек, появляющиеся уже через 6—10 часов и отчетливо выраженные через сутки. Иногда наблюдаются пустулки, и отчетливо выраженные через сутки. Иногда наблюдается лимфангоит с повышением температуры в течение 1—2 дней до 38—38,5°. Учет реакции производится через 24—48 часов путем осмотра и ощупывания участка кожи на месте инъекции. Наличие гиперемии без отека, исчезающей через сутки, рассматривается как отрицательный результат. При протоколировании отмечают размеры отека,

<sup>1</sup> Советская медицина, № 11, 1945.



а также окраска его. Специфическая кожная аллергия появляется довольно рано, иногда на 3—4-й день болезни, и может быть в таких случаях использована для ранней диагностики, однако реакция агглютинации более доказательна. Отрицательный результат реакции не исключает заболевания. Положительный результат, как и положительная кожная реакция при бруцеллезе, может наблюдаться много лет спустя после выздоровления.

4) **Актиномикоз.** Антигеном служит актинолизат, приготовляемый из лизирующей культуры лучистого грибка. Актинолизат вводится внутрикожно в количестве 0,3 см<sup>3</sup>. В положительных случаях не позже чем через 24 часа появляется эритема различной интенсивности и различных размеров, а иногда и отечность. Инфильтрат и везикулы не наблюдаются. Кожная реакция может сопровождаться очаговой реакцией в виде усиленного отделения гноя, мокроты и общей реакцией с повышением температуры. Описанные явления держатся 1—2 дня.

5) **Эхинококкоз** (так называемая реакция Кацони). Аллергеном служит жидкость из эхинококкового пузыря овцы, свиньи, быка или человека, полученная стерильно и обезвреженная ультрафильтрацией, через фильтры типа Зейтца). Жидкость разливается в ампулы и хранится в холодильнике. Взамен пропускания через фильтры можно к стерильно взятой жидкости прибавить такое количество жидкой карболовой кислоты, чтобы концентрация ее равнялась 0,5%, и, продержав жидкость на холодильнике в течение 3 месяцев, верхний слой стерильно отсосать, нижний — отцентрифугировать; жидкость с осадка отсосать и, соединив обе порции, разлить в ампулы. Приготовленный антиген необходимо проверить на стерильность. Для пробы внутрикожно в одно плечо или предплечье вводится 0,1 см<sup>3</sup> аллергена, в кожу другой руки — такое же количество физиологического раствора в качестве контроля. Реакция считается положительной, если на месте укола через 5—15—20 минут образуется белый пузырек диаметром около 1,5 см или больше, вокруг которого появляется островками краснота; островки сливаются в сплошную красноту, а на периферии появляются новые островки. Изредка наблюдается замедленная реакция (через 24 часа). В некоторых случаях через 24—48 часов появляется инфильтрат. При внутрикожной реакции с эхинококковой жидкостью желательно производить исследование крови на эозинофилию непосредственно до ее постановки и через 24 часа после нее. При положительной реакции наблюдается нарастание содержания эозинофилов, иногда довольно значительное. По Хрущевой, только одновременное наличие положительной кожной реакции и эозинофильной реакции крови дает право с определенностью поставить диагноз эхинококкоза.

Реакция имеет относительное значение, так как отрицательный результат ее не исключает заболсвания, а положительный тоже не может считаться безусловно доказательным. У оперированных людей положительная реакция может держаться годами.

б) **Трихиноз.** Антиген представляет экстракт из личинок, извлеченных из инвазированных мышц морской свинки. Реакция производится внутрикожно. Наблюдается два типа реакции — быстрая и замедленная. Первая характеризуется появлением белой падулы диаметром 1 см или больше, иногда дающей отростки, и окруженной обширной эритемой. Она появляется через 10 минут, достигает максимума через 30 минут и исчезает через час. При поздней реакции краснота и припухлость появляются через 20—24 часа. Быстрая реакция наблюдается на второй неделе заболевания, поздняя реакция — на 2—4-й день болезни и в длительно латентно протекающих случаях.



Реакция имеет несомненное диагностическое значение. По наблюдениям некоторых авторов она дает положительный результат у трихинеллезных в 74% случаев, у не болевших лиц — всего в 5% случаев.

7) **Дерматомикозы.** Для внутрикожной реакции пользуются фильтратом культур грибов, выращенных на бульоне Сабуро (трихофитин, микроспорин, фавин, бластомиксин и др.). Вводят внутрикожно 0,1 см<sup>3</sup> препарата (чистого или в разведении, в зависимости от качества изготовленного препарата и клинической формы заболевания). Реакция читается через 24 и 48 часов; окончательная оценка реакции производится не ранее 48 часов. При положительной реакции возникает папуло-уртикарный элемент с инфильтратом в основании; при резко положительной реакции на папуле появляются пузырьки. Появление гиперемизированного пятна без инфильтрата считается слабо положительной реакцией, если пятно не исчезает через 48 часов, и отрицательной, если пятно исчезает через 24 часа.

### ТОКСИЧЕСКИЕ КОЖНЫЕ РЕАКЦИИ

Эти реакции имеют целью выявить наличие врожденного или приобретенного иммунитета к определенным заболеваниям.

1) **Реакция Шика.** У детей, не обладающих иммунитетом к дифтерии, ничтожное количество дифтерийного токсина, введенное внутрикожно, вызывает появление ограниченного покраснения кожи. Дети, не восприимчивые к дифтерии, этой реакции не дают. Количество вводимого токсина соответствует 1/40 минимальной смертельной дозы для морской свинки. Инъекция производится в кожу внутренней поверхности предплечья, дезинфицированную обычным способом. Вводится 0,1 см<sup>3</sup> соответствующего разведения токсина. Для более точного отмеривания 0,1 см<sup>3</sup> токсина лучше всего пользоваться туберкулиновым шприцем. Очень важно правильное введение токсина (см. «Техника внутрикожных реакций»). Для контроля на другой руке или на той же на некотором расстоянии от первого укола вводят аналогичным способом 0,1 см<sup>3</sup> токсина, лишнего токсичности нагреванием при 100° в течение 5—10 минут. При положительной реакции через 72 часа имеется ограниченная гиперемия размером 2,5—5 см в диаметре (измерение производится миллиметровой линейкой) и заметный отек. Краснота и отек держатся 5—7 дней. При очень большой чувствительности может наблюдаться некроз, после которого в течение 3—6 недель остается пигментированное пятно. В отрицательных случаях краснота и отек отсутствуют. Ложная положительная реакция — появление красноты через 6—18 часов — достигает максимума через 36—48 часов. Положительная реакция наблюдается у грудных детей меньше чем в 15%, у детей 1 года — в 90%, 5 лет — в 60% случаев.

2) **Реакция Дика** не так надежна, как реакция Шика. Внутрикожно вводится 0,1 см<sup>3</sup> токсина скарлатинозного стрептококка. Инъекция производится также в кожу ладонной стороны предплечья. Результат учитывается через 18 часов. Положительной реакцию признают в том случае, если к этому времени краснота или инфильтрат будут иметь диаметр 1 см или больше. Реакция иногда уже через 12 часов начинает бледнеть и к концу суток может исчезнуть. Краснота диаметром меньше 1 см и исчезающая раньше, чем через 18 часов, учитывается как отрицательная реакция.

Имеются указания, что при производстве реакции нужно стерилизовать шприц только кипячением в дистиллированной воде; применения спирта или других дезинфицирующих средств нужно избегать, так как они разрушают токсин.



Положительная реакция указывает на восприимчивость к скарлатине у обследуемых детей. У больных скарлатиной проба в первые три дня болезни дает положительный результат и лишь позже исчезает. Отрицательный результат реакции в первые дни болезни говорит против диагноза скарлатины.

Положительная реакция наблюдается у детей в возрасте до 6 месяцев в 30%, 1—2 лет — в 70%, к 10 годам — в 50% случаев.

Иногда встречаются ложные положительные реакции, вызванные инфекцией кожи; они держатся дольше истинных и нередко дают плотный инфильтрат.

1. Периодическая  
(Комиссия атомных)

Элемент	Символ	Атомный вес
Водород	H	1,007
Гелий	He	4,002
Литий	Li	6,941
Бериллий	Be	9,012
Бор	B	10,811
Углерод	C	12,011
Азот	N	14,007
Кислород	O	15,999
Фтор	F	18,998
Неон	Ne	20,179
Натрий	Na	22,989
Магний	Mg	24,304
Алюминий	Al	26,981
Силиций	Si	28,085
Фосфор	P	30,973
Сера	S	32,064
Хлор	Cl	35,453
Аргон	Ar	39,948
Кальций	Ca	40,078
Ванadium	V	50,941
Хром	Cr	51,996
Манган	Mn	54,938
Железо	Fe	55,847
Никель	Ni	58,708
Медь	Cu	63,546
Цинк	Zn	65,38
Галлий	Ga	69,723
Германий	Ge	72,630
Арсен	As	74,921
Селен	Se	78,96
Бром	Br	79,904
Кристаллический йод	I	126,905
Ртуть	Hg	200,59
Таллий	Tl	204,38
Свинец	Pb	207,2
Висмут	Bi	208,98
Полоний	Po	209
Актиний	Ac	227
Торий	Th	232,038
Уран	U	238,029
Нептуний	Np	237
Плутоний	Pu	239
Америций	Am	243
Кюрий	Cm	247
Беркелий	Bk	247
Калифорний	Cf	251
Эйнштейний	Es	252
Фермий	Fm	257
Менделеев	Md	288
Лавричев	Lr	262

## 2. Удельный

Удельный вес

1,007  
1,014  
1,022  
1,029  
1,036  
1,044  
1,052  
1,060  
1,068  
1,076  
1,084



## ПРИЛОЖЕНИЯ

### 1. Практические атомные веса важнейших элементов

(Комиссия атомных весов Международного союза химии, 1937)

Название	Сим-вол	Атомный вес	Валентность	Название	Сим-вол	Атомный вес	Валентность
Азот . . .	N	14,008	3 или 5	Натрий . .	Na	22,997	1
Алюминий . .	Al	26,97	3	Никель . .	Ni	58,69	2 или 3
Барий . . .	Ba	137,36	2	Олово . . .	Sn	118,70	2 или 4
Бор . . . .	B	10,82	3	Осмий . . .	Os	191,5	2, 3, 4 или 8
Бром . . . .	Br	79,916	1	Палладий . .	Pd	106,7	2 или 4
Висмут . . .	Bi	209,00	3 или 5	Платина . .	Pt	195,23	2 или 4
Водород . . .	H	1,0078	1	Радий . . .	Ra	226,05	2
Вольфрам . .	W	184,0	6	Ртуть . . .	Hg	200,61	3 или 4
Железо . . .	Fe	55,84	2 или 3	Свинец . . .	Pb	207,21	2 или 4
Золото . . .	Au	197,2	1 или 3	Серебро . .	Ag	107,880	1
Иод . . . .	I (I)	126,92	1	Сера . . . .	S	32,06	2, 4 или 6
Кадмий . . .	Cd	112,41	2	Стронций . .	Sr	87,63	2
Калий . . . .	K	39,096	1	Сурьма . . .	Sb	121,76	3 или 5
Кальций . . .	Ca	40,08	2	Титан . . . .	Ti	47,90	3 или 4
Кислород . .	O	16,0000	2	Углерод . . .	C	12,01	2 или 4
Кобальт . . .	Co	58,94	2 или 3	Уран . . . .	U	238,07	4 или 6
Кремний . . .	Si	28,06	4	Фосфор . . .	P	31,02	3 или 5
Литий . . . .	Li	6,940	1	Фтор . . . .	F	19,000	1
Магний . . . .	Mg	24,32	2	Хлор . . . .	Cl	35,457	1
Марганец . .	Mn	54,93	2, 4, 6 или 7	Хмр . . . .	Cr	52,01	2, 3 или 6
Медь . . . .	Cu	63,57	1 или 2	Церий . . . .	Ce	140,13	4 или 3
Молибден . .	Mo	96,0	2, 4 или 6	Цинк . . . .	Zn	65,38	2
Мышьяк . . .	As	74,91	3 или 5				

### 2. Удельный вес и процентное содержание водных растворов соляной кислоты при 15°

Удельный вес	Содержание HCl в %	Удельный вес	Содержание HCl в %	Удельный вес	Содержание HCl в %
1,007	1,5	1,091	18,1	1,171	33,9
1,014	2,9	1,100	19,9	1,175	34,7
1,022	4,5	1,108	21,5	1,180	35,7
1,029	5,8	1,116	23,1	1,185	36,8
1,036	7,3	1,125	24,8	1,190	37,9
1,044	8,9	1,134	26,6	1,195	39,0
1,052	10,4	1,143	28,4	1,199	39,8
1,060	12,0	1,152	30,2	1,205	41,2
1,067	13,4	1,157	31,2	1,210	42,4
1,075	15,0	1,161	32,0	—	—
1,083	16,5	1,166	33,0	—	—



### 3. Удельный вес и процентное содержание азотной кислоты при 15°

Удельный вес	Содержание $\text{HNO}_3$ в %	Удельный вес	Содержание $\text{HNO}_3$ в %	Удельный вес	Содержание $\text{HNO}_3$ в %	Удельный вес	Содержание $\text{HNO}_3$ в %
1,000	0,00	1,244	39,00	1,372	59,59	1,453	80,96
1,010	2,00	1,251	40,00	1,374	60,00	1,467	82,00
1,022	4,00	1,257	41,00	1,381	61,21	1,470	83,00
1,045	7,22	1,264	42,00	1,386	62,00	1,474	84,00
1,067	11,41	1,274	43,53	1,393	63,59	1,478	85,00
1,077	13,00	1,284	45,00	1,395	64,00	1,482	86,17
1,089	15,00	1,295	46,64	1,400	65,07	1,485	87,45
1,105	17,47	1,298	47,18	1,405	65,00	1,488	88,00
1,120	20,00	1,304	48,00	1,410	67,90	1,494	89,55
1,138	23,00	1,312	49,00	1,414	68,00	1,495	90,00
1,157	25,71	1,317	49,97	1,419	69,20	1,499	91,00
1,166	27,00	1,323	50,99	1,423	69,96	1,503	92,00
1,172	28,00	1,331	52,33	1,429	71,24	1,505	93,01
1,179	29,00	1,335	53,00	1,432	72,39	1,509	94,00
1,185	30,00	1,339	53,81	1,435	73,00	1,514	95,27
1,192	31,00	1,341	54,00	1,438	74,01	1,516	96,00
1,198	32,00	1,346	55,00	1,442	75,00	1,520	97,00
1,211	33,85	1,353	56,10	1,445	76,00	1,523	97,89
1,218	35,00	1,358	57,00	1,451	77,66	1,529	99,52
1,225	36,00	1,363	58,00	1,456	79,00	1,530	100,00
1,237	37,95	1,368	58,88	1,460	80,00	—	—

### 4. Удельный вес и процентное содержание серной кислоты при 15°

Удельный вес	Содержание $\text{H}_2\text{SO}_4$ в %	Удельный вес	Содержание $\text{H}_2\text{SO}_4$ в %	Удельный вес	Содержание $\text{H}_2\text{SO}_4$ в %
1,017	1,9	1,190	25,8	1,453	55,4
1,014	2,8	1,200	27,1	1,468	56,9
1,022	3,8	1,210	28,4	1,483	58,3
1,029	4,8	1,220	29,5	1,498	59,6
1,037	5,8	1,231	30,9	1,514	61,0
1,045	6,8	1,241	32,2	1,530	62,5
1,052	7,8	1,252	33,4	1,540	64,0
1,060	8,8	1,263	34,7	1,563	65,5
1,067	9,8	1,274	36,0	1,580	67,0
1,075	10,8	1,285	37,4	1,597	68,6
1,083	11,9	1,297	38,8	1,615	70,0
1,091	13,0	1,308	40,2	1,634	71,6
1,100	14,1	1,320	41,6	1,652	73,2
1,108	15,2	1,332	43,0	1,671	74,7
1,115	16,2	1,345	44,4	1,691	76,4
1,125	17,3	1,357	45,6	1,711	78,1
1,134	18,5	1,370	46,9	1,732	79,9
1,142	19,6	1,383	48,3	1,753	81,7
1,152	20,8	1,397	49,8	1,774	84,1
1,162	22,1	1,410	51,2	1,796	85,5
1,171	23,3	1,412	52,6	1,819	89,7
1,180	24,5	1,438	54,0	1,842	100,0



5. Приготовление нормальных растворов из концентрированных

Удельный вес при 15°	Количество раствора, доливаемого до 1 л (в см³)						Удельный вес при 15°	Объем NH <sub>3</sub>
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	HCl	HNO <sub>3</sub>	KOH	NaOH	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>		
0,010	—	—	—	—	—	—	0,995	—
1,020	—	865,5	—	—	—	—	0,993	815,7
1,030	—	575,6	—	—	—	—	0,985	517,0
1,040	791,0	429,6	835,1	—	—	—	0,930	379,3
1,050	633,6	341,4	667,9	872,5	881,8	—	0,975	299,1
1,060	527,3	282,2	556,9	717,9	731,0	876,4	0,970	274,4
1,070	449,9	240,6	477,9	613,2	624,0	745,5	0,965	211,0
1,080	391,4	209,0	418,5	537,8	536,8	747,2	0,960	183,4
1,090	345,3	184,6	372,5	477,9	470,0	570,6	0,955	161,1
1,100	310,6	165,7	335,0	429,4	417,2	511,4	0,950	143,6
1,110	281,2	149,9	304,4	389,2	376,7	460,4	0,945	129,5
1,120	257,4	135,7	278,3	355,4	342,3	418,0	0,940	117,9
1,130	237,0	125,3	256,3	326,5	312,1	383,2	0,935	108,1
1,140	219,4	115,6	237,3	301,7	286,4	357,4	0,930	99,70
1,150	203,9	107,2	220,7	280,0	264,3	329,0	0,925	92,54
1,160	190,5	99,72	206,2	261,7	245,1	—	0,920	86,25
1,170	178,6	93,13	193,3	246,8	228,3	—	0,915	80,71
1,180	167,1	87,31	181,9	233,8	213,4	—	0,910	75,81
1,190	158,3	82,30	171,6	221,9	200,1	—	0,905	71,46
1,200	149,6	77,69	162,4	211,0	187,5	—	0,900	67,55
1,210	141,8	—	154,1	201,0	176,8	—	0,895	64,05
1,220	134,7	—	146,5	191,8	167,7	—	0,890	60,91
1,230	128,2	—	139,4	182,7	159,3	—	0,835	57,82
1,240	122,5	—	132,8	174,8	151,2	—	0,830	54,77
1,250	117,4	—	126,7	167,5	143,9	—	—	—
1,260	112,6	—	121,0	161,1	137,2	—	—	—
1,270	108,1	—	115,8	155,2	130,9	—	—	—
1,280	103,9	—	110,9	149,6	124,7	—	—	—
1,290	99,96	—	106,2	144,3	119,4	—	—	—
1,300	93,26	—	102,1	139,4	114,1	—	—	—
1,310	92,78	—	98,09	134,3	109,2	—	—	—
1,320	89,52	—	94,20	130,2	105,0	—	—	—
1,330	86,43	—	90,52	126,0	101,0	—	—	—
1,340	83,67	—	87,02	122,2	97,29	—	—	—
1,350	81,03	—	83,72	118,6	93,61	—	—	—



6. Таблица для разведения спирта при 15°<sup>1</sup>

Разведенный спирт должен иметь		Подлежащий разведению спирт имеет								
удельный вес	объем %	0,883 90%	0,849 85%	0,863 80%	0,877 75%	0,889 70%	0,901 65%	0,913 60%	0,923 55%	0,933 50%
0,849	85	6,56	—	—	—	—	—	—	—	—
0,863	80	13,79	6,83	—	—	—	—	—	—	—
0,876	75	21,89	14,48	7,20	—	—	—	—	—	—
0,889	70	31,05	23,14	15,35	7,64	—	—	—	—	—
0,901	65	41,53	33,03	24,66	16,37	8,15	—	—	—	—
0,913	60	53,65	44,48	35,44	26,47	17,58	8,76	—	—	—
0,923	55	67,87	57,90	48,07	28,32	28,63	19,02	9,47	—	—
0,933	50	84,71	73,90	63,04	52,43	41,73	31,25	20,47	10,35	—
0,943	45	105,34	99,30	81,38	69,54	57,78	46,09	34,76	22,90	11,41
0,951	40	130,80	117,34	104,01	90,76	77,58	64,48	51,43	38,46	25,55
0,958	35	163,28	143,01	132,88	117,82	102,84	87,93	73,08	58,31	43,59
0,965	30	206,22	188,57	171,05	153,61	136,04	118,94	101,71	84,54	67,45
0,970	25	265,12	245,15	224,30	203,53	182,83	162,21	141,65	121,16	100,73
0,975	20	355,80	329,84	304,01	278,26	252,58	226,98	201,43	175,96	150,55
0,980	15	505,27	471,00	436,85	402,81	368,83	334,91	301,07	267,29	233,64
0,986	10	804,54	753,65	702,89	652,21	601,60	551,06	500,59	450,19	399,83

<sup>1</sup> В таблице указано, сколько объемов воды надлежит прибавить к 100 объемам спирта определенной концентрации, чтобы получить спирт желаемого удельного веса или объемных процентов.

7. Содержание вещества в продажных концентрированных растворах кислот и щелочей

Название кислот и щелочей	Продажное название	Удельный вес	Граммов безводного вещества в 100 г раствора	Граммов на 1 л	Грамм-молекула на 1 л	Количество см <sup>3</sup> для приготовления 1 л нормального раствора
Соляная кислота (HCl)	Концентрированная	1,19	36—37	440	12	83
Серная кислота (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	То же	1,84	94	1 730	18	28
Азотная кислота (HNO <sub>3</sub> )	» »	1,42	69—70	990	16	64
Фосфорная (орто) кислота (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	Сиропообразная	1,71—1,72	85	1 450	15	67 или 34 <sup>1</sup>
Молочная кислота (CH <sub>3</sub> ·CHON·COOH)	Концентрированная	1,21	85	1 030	11	87
Уксусная кислота (CH <sub>3</sub> ·COOH)	Ледяная	1,06	99,5	1 060	17—18	57
Едкий натр (NaOH)	Концентрир.	1,50—1,53	41—47	600—700	15—17	57—67 <sup>2</sup>
Едкое кали (KOH)	То же	1,55	51	800	14	70
Крепкий аммиак (NH <sub>4</sub> OH)	» »	0,90	28 (NH <sub>3</sub> )	250	15	67

<sup>1</sup> В зависимости от того, должно ли происходить титрование соответственно 1 атому водорода (приблизительно до pH = 5) или 2 атомам водорода (приблизительно pH = 8,2).

<sup>2</sup> Растворы едких щелочей в значительной степени колеблются в отношении концентрации главным образом в зависимости от содержания карбонатов.



8 Растворимость некоторых солей в 100 частях воды при различных температурах

Температура в градусах С	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	MgSO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	ZnSO <sub>4</sub>	NaCl	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
	(в частях)					
0	41,4	—	4,76	29,55	25,23	6,63
10	42,2	—	8,25	—	26,30	11,2
15	—	—	11,70	33,73	—	14,6
20	43,0	26,2	16,20	—	26,38	17,8
25	—	26,8	21,90	36,67	—	22,8
30	43,8	29,0	28,60	—	26,50	29,0
35	—	—	33,10	39,98	—	33,8
40	44,8	31,3	32,5	—	26,65	33,2
50	45,8	33,5	31,90	43,45	26,82	32,2
55	—	34,3	—	—	—	—
60	46,8	35,5	31,30	—	27,04	31,7
70	47,1	—	30,80	47,10	27,28	31,4
80	48,8	38,6	30,40	46,20	27,54	31,1
90	49,8	—	30,00	—	27,81	—
100	50,8	40,6	29,90	44,00	28,15	—

9. Эквивалентные веса при оксидо- и иодометрии

Название	Исходное вещество	Конечный продукт	Число окис- лительных экви- валентов в молекуле	Молекуляр- ный вес	Эквивалент- ный вес
Окислители					
Хлор . . . . .	Cl <sub>2</sub>	HCl	2	71	35,5
Бром . . . . .	Br <sub>2</sub>	HBr	2	160	80
Иод . . . . .	J <sub>2</sub>	HJ	2	254	127
Хлорноватистокислый натрий . . . . .	NaClO	NaCl	2	74,5	37,25
Бромноватистокислый натрий . . . . .	NaBrO	NaBr	2	119	59,5
Хлорноватистокислый калий . . . . .	KClO <sub>3</sub>	KCl	6	122,6	20,4
Иодноватистокислый калий . . . . .	KJO <sub>3</sub>	KJ	6	214	35,7
Марганцовокислый калий . . . . .	KMnO <sub>4</sub>	MnO в фор- ме соли	6	158	31,6
»	KMnO <sub>4</sub>	MnO <sub>2</sub>	3	158	52,7
»	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> в фор- ме соли	6	294	49
Двуххромовокислый калий . . . . .	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	4	34	17
Перекись водорода . . . . .	FeCl <sub>3</sub>	FeCl <sub>2</sub>	1	162,2	162,2
Хлорное железо . . . . .	CuO	Cu <sub>2</sub> O	1	79,6	79,6
Окись меди . . . . .	K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub>	K <sub>4</sub> Fe(CN) <sub>6</sub>	1	329,19	329,19
Железосинеродистый калий . . . . .					
Восстановители					
Сернистое закисное железо . . . . .	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	1	278	278
Сернистая кислота . . . . .	H <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2	82	41
Серноватистокислый натрий . . . . .	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O	Na <sub>2</sub> S <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	1	248	248
Щавелевая кислота . . . . .	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O	2	126	63
Муравьиный альдегид . . . . .	$\text{H}-\text{C}\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \text{=O} \\ \text{H} \end{smallmatrix}$	CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O	4	30	7,5
»	$\text{H}-\text{C}\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \text{=O} \\ \text{H} \end{smallmatrix}$	$\text{H}-\text{C}\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \text{=O} \\ \text{OH} \end{smallmatrix}$	2	30	15
»	Na <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	CO <sub>2</sub> + NaOH	2	133,934	66,997
Щавелевокислый натрий . . . . .					



10. Таблица упругости насыщенного водяного пара

Темпера- тура в градусах С	Упругость в мм ртутного столба	Темпера- тура в градусах С	Упругость в мм ртутного столба	Темпера- тура в градусах С	Упругость в мм ртутного столба	Темпера- тура в градусах С	Упругость в мм ртутного столба
0,0	4,6	7,5	7,8	15,0	12,8	22,5	20,4
0,5	4,8	8,0	8,0	15,5	13,2	23,0	21,1
1,0	4,9	8,5	8,3	16,0	13,6	23,5	21,7
1,5	5,1	9,0	8,6	16,5	14,0	24,0	22,3
2,0	5,3	9,5	8,9	17,0	14,5	24,5	23,1
2,5	5,5	10,0	9,2	17,5	15,0	25,0	23,8
3,0	5,7	10,5	9,5	18,0	15,5	25,5	24,5
3,5	5,9	11,0	9,8	18,5	16,0	26,0	25,2
4,0	6,1	11,5	10,2	19,0	16,5	26,5	26,0
4,5	6,3	12,0	10,5	19,5	17,0	27,0	26,7
5,0	6,5	12,5	10,9	20,0	17,5	27,5	27,5
5,5	6,8	13,0	11,2	20,5	18,1	28,0	28,3
6,0	7,0	13,5	11,6	21,0	18,6	28,5	29,2
6,5	7,3	14,0	12,0	21,5	19,2	29,0	30,0
7,0	7,5	14,5	12,4	22,0	19,8	29,5	30,9

## 11. Греческий алфавит

$\alpha$ — альфа	$\nu$ — ню
$\beta$ — бета	$\xi$ — кси
$\gamma$ — гамма	$\omicron$ — омикрон
$\delta$ — дельта	$\pi$ — пи
$\varepsilon$ — эпсилон	$\rho$ — ро
$\zeta$ — дзета	$\sigma$ — сигма
$\eta$ — эта	$\tau$ — тау
$\theta$ — тэта	$\upsilon$ — ипсилон
$\iota$ — иота	$\varphi$ — фи
$\kappa$ — каппа	$\chi$ — хи
$\lambda$ — ламбда	$\psi$ — пси
$\mu$ — ми	$\omega$ — омега

[illegible]



## ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Автоклав 638  
Агар Бейли 658  
— висмут-сульфитный 689  
— дрожжевой 651  
— желчно-кровяной 657  
— кровяной Левинталя 658  
— мясо-пептонный 648  
— на бульоне Хоттингера 650  
— на молочной сыворотке 655  
— с конгоротом 689  
— с кровью 657  
— — эозином и метиленовой синькой по Левину 689  
— сыровоточный 658  
— щелочной 657  
— Эндо 689  
Агглютинации реакция 727  
Агранулоцитоз, картина крови 45  
Адлера способ количественного определения уробилина (стеркобилина) в каловых массах 551  
Азооспермия 429  
Азотная кислота, вес удельный при 15° 766  
— — содержание процентное при 15° 766  
Азур-эозиновая смесь, получение 23  
Acarus 472  
Актинолизат 762  
Актиномироз 467  
— реакция кожная аллергическая 762  
Актиномироз, форма (ы) 467  
— — шейно-лицевая 467  
Actinomyces 467  
— asteroides 469  
— bovis 469  
— madurae 469  
Актиномицеты 467  
Алейкия геморрагическая, картина крови 45  
Алкалоз 244, 246  
Аллерген 762  
Аллергические кожные реакции 759  
Алфавит греческий 770  
Альбуминурия 312  
— ортостатическая 315  
Альтгаузена способ количественного определения сахара в моче 324  
α-стрептококк 673  
Амбара константа уреосекреторная 412  
Амбоцеттор 72  
Амеба (ы) 560  
— биология 560  
— виды 565  
— Гартмана 568  
— дизентерийная 565  
— диспар 568  
— карликовая 571  
— кишечная 568  
— — цисты 570  
Амеба, морфология 560  
— Мошковского 568  
— прецисты 560  
— стадии 560  
— цисты 560  
Амилоид, распознавание 238  
Анаэробные микробы, обнаружение 707  
— — — исследование бактериологическое, методика 707  
— — — — микроскопическое 707  
— — — посев исследуемого материала 707  
— — — — — метод Перетца 707  
— — — — — рассев исследуемого материала по Вейон-Виньялю 708  
— — свойства биохимические 709  
— — — основные 711, 712, 713, 714  
Анаэростат 643  
Anguillula stercoralis 605  
Ангина с лимфоцитарной и моноцитарной реакцией, картина крови 49  
Андреда индикатор 652  
Анемия апластическая, картина крови 45  
— ахиллическая, картина крови 51  
— гемолитическая острая, картина крови 47  
— на почве свинцового отравления, картина крови 50  
— пернициозная, картина крови 46  
— после кровотечений и инфекционных заболеваний, картина крови 50  
— при нефрите, картина крови 50  
— — при различных заболеваниях, картина крови 50  
— раковая, картина крови 50  
— у беременных, картина крови 50  
Анизоцитоз 33  
Анкилостома 602  
— значение патогенное 603  
— цикл жизненный 603  
— яйца 603  
Ankylostoma duodenale 602  
Anopheles 58  
Анри реакция 67  
Антибиотики, чувствительность микроорганизмов к ним, определение 720  
Антигены 72  
Антипротромбин 107  
Антракоиды 719  
— диагноз дифференциальный 719  
Анэозинофилия 39  
Аппарат Аристовского 664  
— ван Слайка 192, 240  
— Гесса 118  
— Детермана 119  
— манометрический ван Слайка 247  
Аппаратура для бактериологических исследований 637  
Аппендицит, картина крови 54  
Ареометр 301  
Аристовского аппарат 664  
— способ посева анаэробных условиях 664  
Арнольд-Липлявского проба для определения ацетоуксусной кислоты в моче 330  
Асбест 287  
Асбестовые тельца 287  
Аскарида человеческая 596  
— — значение патогенное 598  
— — цикл жизненный 598  
— — яйца 598  
Ascaris lumbricoides 597  
Аспергиллез легких 469  
Aspergillus 469  
Асцитическая жидкость, исследование при опухолях брюшной полости 633  
Асцитический бульон и агар 658  
Атомные веса важнейших элементов 765  
Аутенрита и Функа способ определения холестерина в крови 212  
Аутенрита колориметр 144  
Аутоагглютинация при определении групп крови 103  
Аутолизат дрожжевой 651  
Achorion gypseum 455  
— Quinckeum 455  
— Schönleini 454  
Ацидоз 244, 246  
Ашгейм-Цлондека реакция для биологического распознавания беременности 418  
— — — с разведенной мочой 42)  
Аэробы, посев на чашке Петри 662  
— — техника 661  
— — уколом 661  
Базофильные лейкоциты 39  
Бактериолизины 72  
Бактериологические лаборатории, памятка для работников 670  
— — правила работы 671  
Бактериологическое исследование 636  
— — аппаратура 637  
— — методика, указания общие 636  
— — посуда и ее подготовка 637  
— — собирание и пересылка материала 670  
Бактериология клиническая 636  
B. crassus 428  
Бактериурия 398  
Балантидий 576  
Balantidium coli 576  
Бальской трубка реактивная 366  
Барберии-Чевидалли реакция 431  
Бейли агар 658  
Белковое тело Бенс-Джонса 315  
Белл-Дойзи-Брингса способ определения фосфатов в крови 216



Бенедикта проба для качественного определения сахара в моче 316  
— способ количественного определения сахара в моче 322  
— — определения мочевой кислоты крови 211  
Бетиньети способ окраски 670  
Бенс-Джонса белковое тело 315  
Беременность, распознавание биологическое по Ашгейм-Цондеку 418  
— — — — — проба на кроликах 420  
— — — — — мышах 418  
В-стрептококк, колонии 673  
Беттхера кристаллы семенные 431  
Биливердин 531  
Билирубин, значение диагностическое повышения количества его в крови 520  
— сыворотки, определение качественное по ван ден Беру 514  
— — — — — количественное по ван ден Беру 516  
— — — — — по Герцифелду и Бокальчуку 518  
Билирубиновый показатель 519  
Биологические методы исследования 737  
Биуретовая реакция 313  
*Blastomyces dermatitidis* 465  
Бластомикоз 464  
— американский 464  
— — возбудитель 465  
— — поражения внутренних органов, материал для исследования 465  
— — поражения кожные, материал для исследования 465  
— европейский 464  
— — возбудитель 464  
— — исследование микроскопическое, материал 464  
— — формы 464  
Бластоцистис 577  
*Blastocystis hominis* 577  
Бледная спирохета 432  
Бленоррея 755  
Боаса и Эвальда завтрак пробный 479  
Болдырева завтрак масляный 512  
Болезнь Никола-Фавра 441  
Борде-Жангу реакция 94  
— — — — — антиген, титрование 93  
Боровской и Ровинской модификация определения протромбина 115  
— способ приготовления раствора коллоидного золота 264  
Бородина прибор 353  
*Bothrioccephalus latus* 586  
Брандберга способ количественного определения белка в моче 311  
Бромкрезоловая среда 653  
Бруцеллез, реакция кожная аллергическая 761  
— — связывания комплемента 94  
— — серодиагностика 735  
— — реакция Райта 735  
— — — Хеддльсона 735  
Бруцеллин 761  
Брюшной тиф, картина крови 52  
— — — — — реакция кольцепреципитации с полным антигеном 732  
Бульон желчный 655  
— Мартена 651  
— мясо-пептонный 644, 648  
— питательный основной, приготовление 644  
— сахарный 657  
— Хоттингера 650  
Буферная смесь кислая (рН 1,4—2,0) 138  
Буферные смеси ацетатные 138  
— — барбитуровые 138  
— — приготовление 137  
— — фосфатные 137

- Бухтера пробирка 663
- способ посева в анаэробных условиях 663
- Бюретки калиброванные 127
- краны 130
- Бюркера камера счетная 13
- сетка 15
- способ определения скорости свертывания крови 109
- Бюрне проба 761

Влагалище, бактерии патогенные 428  
— грибки патогенные 428  
— *enterobius vermicularis* 428  
— исследование мазка цитологическое 425  
— отделяемое 425  
— — картина бактериологическая 439  
— паразиты животные 427  
— степени чистоты 425  
— *trichomonas vaginalis*, обнаружение 427  
Влагалищный мазок, исследование цитологическое 427  
— — окраска 426  
— — типы клеток 426  
— — — реакций 427  
Власоглав 599  
— значение патогенное 601  
Внутрикожные реакции, техника 759  
Вода, вес при различных температурах 128  
— реакция, определение 25  
Водяной пар, насыщенный, упорность 770  
Возвратный тиф, возбудитель 71  
— — клещевой, возбудитель 71  
Волпера проба кожнопластырная 760  
Вольгардта способ определения хлора в моче 343  
Вольгемута метод определения количества фибрин-фермента 116  
Восковидные цилиндры 393  
Воспалительные процессы, картина крови 51  
Вульва, язва острая Чапин-Липшютца 428  
  
Гайема жидкость 16  
Гайнеса проба для качественного определения сахара в моче 317  
— — — — — вещества, затемняющие ее результат 317  
Г-стрептококк, колонии 673  
Гамонты 58  
Ганзена палочка 471  
Гате-Папакоста реакция 441  
— — — формоловая 71  
Гейнца тельца, окраска 28  
Геллера проба 310, 336  
Гельминтологическое исследование 578  
Гельминты 578  
Гематоидин 385  
Гематоксилин Эрлиха, приготовление 426  
Гематурия 390  
— ложная 390  
Гемобилирубин 520  
Гемоглобин, колебания количества в зависимости от пола и возраста 10  
— — — определение количества 8  
— — — гемометр Сали 8  
— — — значение диагностическое 11  
— — — — источники ошибок 9  
— — — — ход определения 9  
Гемоглобиновые цилиндры 393  
Гемолизины 72  
Гемолитическая сыворотка для реакции Вассермана, приготовление 75  
— — — — — титрование 77  
Гемометр Сали 8  
Гемофилия, картина крови 50  
*Haemophilus influenzae* 296  
Генцианвиолет, раствор карболовый 667  
Гепарин 107  
Герхардта проба для определения ацетоуксусной кислоты в моче 329  
Герцфельда и Бокальчука способ определения билирубина сыворотки 518



Гесса аппарат 118  
— проба инъекционная 118  
Гетеродера Мариони 607  
Heterodera Marioni 607  
Гей проба 333  
Гиалиновые цилиндры 392  
Giardia intestinalis 573  
Гидронефроз, содержимое, исследование 618  
Hymenolepis nana diminuta 588, 589  
Гипергликемия 162  
Гиперхолестеринемия 215  
Гипогликемия 164  
Гипостенурия 303  
Гипосульфит натрия, раствор децинозный, приготовление 135  
Гиппуровая кислота 381  
Гисса среды 656  
— для кокков 657  
Гистиоциты 42  
Глаз, отделяемое, исследование 753  
— бактериологическое 754  
— бактериоскопическое 754  
— взятие материала 753  
— микробы 754  
Глаубермана камера 254  
Гликозурия, значение диагностическое 324  
— почечная 162  
Глисты 578  
— влияние на организм 578  
— значение патогенное 583  
— исследование макрогельминтологическое 579  
— отыскивание головки ленточных глистов 579  
— отыскивание мелких глистов 579  
— микрогельминтологическое 580  
— члеников 579  
— круглые 596  
— морфология 596  
— представители отдельные 597  
— цикл жизненный 596  
— ленточные 583  
— морфология 583  
— оплодотворение 584  
— отыскивание головки 579  
— представители отдельные 586  
— финны 584  
— хозяева промежуточные 586  
— цикл жизненный 584  
— личинки, способ концентрации 583  
— мелкие, отыскивание 579  
— морфология 583  
— цикл жизненный 583  
— яйца 609  
— обнаружение, способ соскоба 582  
— способ концентрации 580  
Глицериновая смесь 655  
Глицериновый картофель 659  
Гмелина проба 331  
Гной, исследование без заведомого указания на предполагаемого возбудителя 752  
Гонококк 437, 680  
— в моче, обнаружение 400  
— исследование, взятие материала 438  
— метод бактериоскопический 439  
— методика 437  
— окраска препаратов 439  
— способы 439  
— морфология 437  
— изменения при пенициллинотерапии 437  
Гоноррея, возбудитель 437  
— локализация поражения 437  
— реакция Борде-Жангу 92  
Голкина и Фолина способ определения мочевой кислоты 352  
Горюхой способ концентрации яиц глистов 581  
Hormodendron 467

Гормоны гонадотропные в моче, определение количественное 421  
Гортань, исследование слизи на туберкулезные палочки 294  
Горяева сетка 14  
Гофмана палочки 681  
Грама способ окраски бактерий 667  
Гранулоцитоз 38  
Грибки дрожжеподобные, культуры 461  
— патогенные 442  
— исследование микроскопическое 444  
— колонии гигантские 446  
— мозаичные 457  
— получение культуры 445  
— плесневые 469  
Грибковые болезни 442  
Грибок Sporotrichum 466  
Григорьева-Раппопорт реакция 85  
Григоровой система моноцитарная 41  
Грипп, картина крови 53  
Группы крови, определение 100  
Гумпрехта клетки 40  
Гупперт-Сальковского проба 332  
2,6 дихлорфенолиндифенол, установка титра раствора 358  
Двенадцатиперстная кишка, содержимое, получение 501  
— полученное зондом 501  
Двуустка китайская 595  
— кошачья (сибирская) 594  
— кровяная в моче 397  
— ланцетовидная 593  
— легочная 595  
— печеночная 592  
Деен-Вебера реакция 547  
Деле тельца 35  
Денке вибрион 706  
Дерматомикозы, группы 442  
— диагностика культуральная 445  
Дерматомикозы, исследование лабораторное, взятие материала 443  
— методика 443  
— микроскопическое 444  
— поверхностные 446  
— возбудители 446  
— реакция кожная аллергическая 763  
Детермана аппарат 119  
Диагностикумы 704  
Диазореакция Эрлиха 341  
Диастаза 235  
Дизентерийные микробы, идентификация выделенных культур 701  
— обнаружение 696  
— исследование бактериологическое 698  
— консервирование испражнений 698  
— материал для исследования 697  
— посев исходного материала 698  
— сбор испражнений 697  
— указания общие 696  
Дизентерия, возбудители 696  
— реакция кольцепреципитации с полным антигеном 732  
— серодиагностика 732  
Дика реакция 763  
Dicrocoelium lanceatum 593  
Dipylidium caninum 590  
Диплобацилла Моракс-Аксенфельда 755  
Диплококк Френкеля 295  
Диплококки граммотрицательные, свойства биохимические 650  
Дистома легочная 289  
Distomum felineum s. sibiricum 594  
— hepaticum 592  
Diphyllbothrium latum 586  
Дитриха пробки 277  
Дифтерийные палочки, дифферен-

цирование от палочки Гофмана 681  
Дифтерийные палочки, исследование бактериологическое 681  
— обнаружение 680  
— взятие материала и посев на сыворотку 680  
— метод ускоренный 682  
— окраска по Нейссеру для выявления зернистости 668  
— определение вирулентности (токсигенности) культур 683  
— метод внутрикожный 683  
— свойства биохимические 682  
— типы биологические 683  
Дифтерия, картина крови 52  
— кожи 470  
Диета пробная по Певзнеру 529  
Dlm 743  
Доннэ реакция 305  
Дрожжевой агар 651  
— аутолизат 651  
Дрожжевые грибки в моче 398  
— поражения кожи и слизистых оболочек поверхностные 459  
— диагностика культуральная 460  
— возбудители 461  
— кожных складок 459  
— ногтевых валиков и ногтей 460  
— слизистых оболочек 460  
Дуоденальное содержимое кистки 508  
Дуоденальный зонд 501  
— техника введения 502  
Dcl 743  
Дюбоска колориметр 141

Echinococcus granulosus 590  
Eimeria clupearum 575  
— s. Oxyuris sardinae 575  
Endolimax nana 571  
Entamoeba coli 568  
— признаки отличительные 571  
— dispar 569  
— Hartmanni 569  
— histolytica 565  
— forma magna 566  
— minuta 566  
— признаки отличительные 571  
— Moschkowsky 568  
Enterobius vermicularis 599  
— во влагалищном отделяемом 428  
Epidermophyton inguinale 458  
— Kaufmann-Wolf 458  
— rubrum 457, 458  
Ермольевой и Ведыминой модификация микрометода определения пенициллина в жидкостях организма 725  
Escherichia, свойства культуральные и ферментативные 751  
Eucolus aerophilus 290, 602  
Eustrongylus gigas в моче 398

Жгута феномен, получение 117  
Желтки бактерий, окраска 653  
Желтковые (железистые) 573  
Желатина 650  
Желудок, исследование функции по Зимницкому 451  
— Левину 441  
— проба гистаминовая 484  
— хромоскопия 496  
Желудочно-кишечный тракт, исследование 473  
Желудочное содержимое 474  
— азот остаточный, определение количества 496  
— значение диагностическое 496  
— дрожжи 500  
— извлечение 474  
— способ Смирнова 476  
— толстым зондом 475



Желудочное содержимое, исследование на туберкулезные палочки 294

- при раке желудка 629
- пищевода 629
- микроскопия 497
- наличие жира 497
- крахмальных зерен 497
- лейкоцитов 498
- мышечных волокон 497
- растительных клеток 497
- эпителия 497
- эритроцитов 498
- палочки молочнокислого брожения 500
- паразиты растительные (микроорганизмы) 500
- полученное натошак, белок, определение 478
- исследование 477
- микроскопическое 478
- количество 477
- проба на молочную кислоту 478
- после пробного завтрака, дефицит свободной соляной кислоты, определение 491
- желчь, определение 492
- жирные кислоты летучие, определение 488
- запах 486
- извлечение тонким зондом 481
- исследование 478, 485
- способы многомоментные 479
- одномоментные 478
- кислотность истинная, определение 488
- определение по Михаэлису 491
- титрационная общая, определение 489
- кислоты, определение количественное 488
- количество 485
- коэффициент расщепления 486
- кровь, определение 492
- липаза, определение 494
- молочная кислота, определение 487
- наличие слизи 486
- пепсин, определение 492
- качественное 492
- количественное по способу Метта 493
- переваривание углеводов, определение 491
- реакция 487
- соляная кислота свободная, определение 487, 490
- связанная, определение 490
- сычужный фермент, определение 494
- трипсин, определение 493
- химификация 486
- хлор, определение 495
- показатель кислотный 495
- хлорный 495
- цвет 486
- сарцины 500
- состав клеточный 498
- лейкоциты сегментированные 499

Желудочное содержимое, состав клеточный, эпителий желудочный 499

- Желудочный(е) зонд(ы) 474
- оливы Соловья 476
- противопоказания к введению 476
- толстый 474
- преимущества и недостатки 475
- тонкий 475
- преимущества и недостатки 475
- Желчные пигменты, соотношение при различных формах желтухи 521
- Желчный бульон 655
- Желчь А 504
- В 504
- бактерии 508
- белок, определение 506
- билирубин, определение по ван ден Бергу 506
- С 505
- исследование 504
- кислоты желчные, определение 507
- клетки 508
- количество 506
- кристаллы 508
- кровь, определение 507
- микроскопия 507
- паразиты животные 508
- получение из желчного пузыря 504
- прозрачность 505
- реакция 506
- свойства 504
- удельный вес 506
- уробилин 507
- холестерин 507
- цвет 506
- Животные, введение заразного материала внутривенное 739
- внутрикожное 738
- впрыскивание подкожное 738
- техника 738
- через пищеварительный тракт 740
- опыты 737
- фиксация 738
- Жидкости разводящие 16
- Жидкость Гайема 16
- Жолли тельца 34
- Завтрак(и) пробный(е) 480
- масляный по Болдыреву 512
- пробный по Боасу и Эвальду 479
- спиртовой Эрмана 480
- Закс-Витебского реакция 88
- Зейферта среда 654
- Зернистые цилиндры 392
- Зигота 58
- Зимницкого способ исследования функции желудка 481
- почек 408
- Золото коллоидное, приготовление, способ Боровской 264
- Зонд дуоденальный 501
- Зонды желудочные 474
- Зонне палочка 696
- Игла Франка 7
- Изостенурия 303
- Инвазивность микробов 743
- Индикан в крови, определение 206
- Индикатор Андреа 652
- Индикаторы Кларка 652
- приготовление 139
- Инулин, определение в плазме и моче 416
- Инфекционные заболевания, исследования серологические 725
- картина крови 51
- Инфузории 576
- Инъекционная проба Гесса 118
- Иод, раствор децинормальный, приготовление 136
- Иодамеба Бючли 571
- Jodamoeba Bütschli 571

Иодометрия, веса эквивалентные 769

- Isospora belli Wenyon 576
- hominis 576
- Испражнения, исследование химическое 547
- кровь 547
- Каган способ обогащения мокроты 294
- Казеиновый перевар 651
- Кал новорожденного, исследование бактериоскопическое 609
- овечий 530
- Кала-азар 70
- Калантарян способ концентрации яиц глистов 582
- Калибровка клина 146, 188
- Калий иодноватокислый, раствор децинормальный, приготовление 136
- марганцовокислый, раствор децинормальный, приготовление 134
- Калинина и Гинзбурга модификация реакции связывания комплемента 96
- Каловые массы, амёбы 560
- взрослого, исследование бактериоскопическое 609
- гной 533
- грибки дрожжевые 610
- плесневые 610
- запах 532
- исследование бактериоскопическое 609
- кишечная палочка 610
- туберкулезная палочка 610
- флора иодофильная 610
- макромикроскопическое при амёбной дизентерии 545
- бациллярной дизентерии 544
- макроскопическое 529
- микроскопическое 534
- детрит 544
- кристаллы Шарко-Лейдена 543
- лейкоциты нейтрофильные 541
- макрофаги 542
- метолика 534
- морфологические элементы кишечной стенки 540
- образования кристаллические 542
- аммиак-магnezия-трипельфосфат фосфорнокислая 542
- билирубин 543
- вещества лекарственные 544
- гематоидин 543
- кальций фосфорнокислый нейтральный 543
- шавелево-кислый 513
- холестерин 543
- пищевые остатки 534
- белок свернувшийся 539
- жир 536
- реакции микрхимические 537
- клетчатка растительная 539
- крахмал 540
- мышечные волокна 534
- соединительная ткань 535
- приготовление препаратов 534
- слизь 542
- эозинофилы 541
- эпителий плоский из заднепроходного отверстия 540
- эпителий цилиндрический 540



Кисты: поджелудочной жел  
содержимое, исследование

— — — — — значение ди-  
агностическое 232



776

— — — — — схема 18



Кровь, элементы форменные, определение, техника 18  
Кровяная сыворотка свернутая для дифтерийных палочек 658  
Кровяной сгусток, определение растяжимости и сопротивляемости 111  
Ксантин 384  
Ксантопротеиновая реакция 205  
Ксантохромия 253  
Кудряшева модификация определения протромбина 114  
Куршмана спирали 277, 284  
Кьельдаля способ определения остаточного азота крови 180

Лакмуса настойка 652  
Лакмусовая сыворотка синтетическая 657  
*Lambia intestinalis* 573  
Ланге проба для определения ацетоуксусной кислоты и ацетона в моче 327  
— реакция 263  
Левина способ исследования функции желудка 481  
— среда 654  
Левинсона реакция 261  
— способ окраски жира 384  
Левинтала агар кровяной 658  
Левулезурия 325  
Легкие, аспергиллез 469  
Лейкемия, картина крови 48  
— лимфатическая, картина крови 48  
— миелоидная, картина крови 48  
— моноцитарная, картина крови 49  
— острая, картина крови 48  
Лейкопения 34, 38  
Лейкопоз 6  
Лейкоцитарная формула, подсчет, техника 35  
Лейкоцитоз 34, 37  
Лейкоциты 34  
— базофильные 40  
— виды, количество абсолютное, определение 36  
— нейтрофильные 36  
— зернистость токсическая 30  
— подсчет, техника 18  
— увеличение количества 34  
— эозинофильные 38  
Лейцин 384  
Лейшмании 69  
Лейшмании, морфология 70  
— формы 69  
Лейшманиоз 70  
— висцеральный 70  
— диагностика, исследование пунктата грудины 70  
— реакция формоловая Гате-Папакоста 70  
— кожный 70, 471  
Лекарственные вещества, определение в моче 371  
Лентец широкий 586  
Леффлера синька метиленовая щелочная 667  
Либена проба для определения ацетоуксусной кислоты и ацетона в моче 328  
Лимфатические реакции 41  
Лимфобласты 40  
Лимфогрануломатоз, картина крови 53  
— паховый 441  
— диагноз 441  
— реакция Гате-Папакоста 441  
— — — — — Фрея 441  
Лимфопения 41  
Лимфоцитоз 40  
Лимфоциты 40  
— количество 40  
— патологические 40  
Личинки глистов, способ концентрации 583  
— мух, симулирующих глисты и их яйца 607

Лишай отрубевидный 461  
Лучистый грибок 467  
— — — — — друзы 467  
— — — — — исследование микроскопическое 468  
— — — — — окраска 468  
— — — — — колонии 468  
Лучистый грибок, культивирование 469  
Любенау среда яичная 659  
Люголя раствор 667  
Лямблии 508, 573

Мазки крови, окраска азур-эозиновыми смесями 23  
— — — — — по Май-Грюнвальду 24  
— — — — — Паппенгейму 24  
— — — — — Райту 23  
— — — — — окрашенные, изучение 32  
— — — — — техника приготовления 21  
— — — — — фиксация 22  
Май-Грюнвальда способ окраски мазков крови 24  
Макробласты 33  
Макрогаметы 58  
Макрогельминтологическое исследование 579  
Макроцитоз 33  
Малярия, картина крови 54  
— реакция меланофлукуляции 67  
Манометрический аппарат ван Слайка 247  
— — — — — абсорбция паров в манометре 249  
— — — — — проба на непроницаемость 248  
— — — — — смазка 248  
— — — — — чистка между анализами 248  
Манту реакция 760  
Мартина бульон 651  
— пептон 651  
Масс и Магро способ определения скорости свертывания крови 110  
Мауреровская пятнистость эритроцитов 61  
Мегалоциты 33  
Мейнике реакция просветления 87  
Меланофлукуляции реакция при малярии 67  
Менингококки 678  
— обнаружение в слизи из носоглотки 679  
— — — — — спинномозговой жидкости 258, 678  
— — — — — типы серологические 679  
Мерозонты 57  
Метамизолоциты 36  
Метиленовая синька, растворы спиртовой и спирто-водный 667  
— — — — — щелочная Леффлера 667  
Метта способ количественного определения пепсина в желудочном содержимом 493  
Мечникова вибрион 706  
Микозы 442  
— глубокие 464  
— плесневые 469  
Микробиологические методы исследования 636  
Микробы, вирулентность 743  
— — — — — определение 743  
— — — — — инвазивность 743  
— — — — — исследование в височей и раздавленной капле 665  
— — — — — живом состоянии 665  
— — — — — темном поле зрения 665  
— — — — — кислотоустойчивые, окраска 668  
— — — — — по Циль-Нильсену 668  
— — — — — кокковой группы, обнаружение 672  
— — — — — окраска включений 668  
— — — — — жгутиков 669  
— — — — — серебрение по Морозову 669  
— — — — — способ Бениньетти 670  
— — — — — капсул 665

Микробы, окраска, методы 666  
— — — — — ориентировочная 667  
— — — — — по Граму 667  
— — — — — видоизменение Синева 668  
— — — — — Ольту 668  
— — — — — спор 669  
— — — — — определение сульфамидоустойчивых культур, выделенных от больных 719  
— — — — — приготовление окрашенных препаратов 666  
— — — — — препаратов из культур 665  
— — — — — токсигенность, определение 747  
— — — — — токсичность 743  
— — — — — определение 743, 747  
— — — — — фактор распространения, определение 745  
— — — — — приготовление субстрата по способу Смирновой 745  
— — — — — производство реакции 745  
— — — — — чувствительность культур к антибиотикам, определение 720  
— — — — — пенициллину, определение 720  
— — — — — к химио-терапевтическим средствам, определение 719  
Микробюретки 129  
Микрогаметы 58  
Микрогельминтологическое исследование 580  
— — — — — приготовление нативных препаратов 580  
*Micrococcus ugae*, обнаружение 401  
Микроспория 451  
— возбудители, культуры 452  
Микроспорон пушистый 452  
— ржавый 452  
*Microsporon ferrogineum* 452  
— furfur 461  
— lanosum 452  
— minutissimum 462  
— — — — — обнаружение 462  
Микроцитоз 33  
Михалиса способ определения кислотности желудочного содержимого 491  
Мицелласты 36  
Мицеллы 36  
Мокрота 274  
— аскариды 278, 291  
— базофилы и моноциты 281  
— возбудители микотических заболеваний легких 291  
— волокна коралловые 285  
— — — — — обызвестленные 285  
— — — — — эластические 285  
— гнойная 276  
— гнойно-слизистая 276  
— грибок лучистый 295  
— деление на слои 275  
— дистомы легочная 289  
— запах 274  
— зерна актиномикоза 277  
— инородные тела 278  
— исследование бактериоскопическое 291  
— — — — — макроскопическое 274  
— — — — — микроскопическое 278  
— — — — — препараты, приготовленные 278  
— — — — — свежие 278  
— — — — — фиксированные, окрашенные 279  
— — — — — на палочку инфлюэнцы 296  
— — — — — пневмококки 295  
— — — — — присутствие белка 276  
— — — — — туберкулезные палочки 291  
— — — — — исследование мокроты, добытой промыванием желудка 296  
— — — — — — — — — — — окрашенные мажков 291  
— — — — — — — — — — — окраска по Массе 292  
— — — — — — — — — — — Циль-Нильсену 292



Мокрота, исследование на туберкулезные палочки, окраска по Шпёнгеру 292  
 — — — — — способы обогащения 293  
 — — — — — способ всплывания (флотации) 293  
 — — — — — способ Каган 294  
 — — — — — Петрова 294  
 — — — — — с антиформинном 294  
 — — — — — при раке гортани 626  
 — — — — — легкого 627  
 — — — — — клетки альвеолярные 281  
 — — — — — гигантские 283  
 — — — — — опухолевые 283  
 — — — — — пылевые 282  
 — — — — — сердечных пороков 282  
 — — — — — реакция на железо 282  
 — — — — — эпителиальные 281  
 — — — — — количество суточное 274  
 — — — — — кристаллы билирубина 286  
 — — — — — гематоидина 286  
 — — — — — жирных кислот и мыл 287  
 — — — — — лейцина и тирозина 287  
 — — — — — холестерина 287  
 — — — — — Шарко-Лейдена 286  
 — — — — — кровавая 276  
 — — — — — кровянистая 276  
 — — — — — кусочки легкого некротизированные 278  
 — — — — — опухоли легкого 278  
 — — — — — лейкоциты 289  
 Мокрота, лейкоциты нейтрофильные 280  
 — — — — — лимфоциты 280  
 — — — — — мазки, окраска 279  
 — — — — — приготовление 279  
 — — — — — фиксация 279  
 — — — — — макрофаги альвеолярные 282  
 — — — — — мегакарициты 281  
 — — — — — микрококк катаральный 297  
 — — — — — micrococcus tetragenes 297  
 — — — — — микроорганизмы 297  
 — — — — — обработка антиформинном для обнаружения асбестовых телец 288  
 — — — — — образования кристаллические 286  
 — — — — — мизлиновые в клетках 283  
 — — — — — окраска мазка 279  
 — — — — — палочка дифтерии 297  
 — — — — — палочки туберкулезные 291  
 — — — — — обнаружение 291  
 — — — — — паразиты животные 289  
 — — — — — пленки дифтеритические 278  
 — — — — — пневмоцилла Фридендера, обнаружение 296  
 — — — — — пневмококк 295  
 — — — — — обнаружение 295  
 — — — — — при абсцессе легкого 299  
 — — — — — актиномикозе легкого 299  
 — — — — — бронхиальной астме 298  
 — — — — — бронхопневмонии 298  
 — — — — — бронхоэктазах 298  
 — — — — — гангрене легкого 299  
 — — — — — злокачественных новообразованиях легких 299  
 — — — — — крупозной пневмонии 299  
 — — — — — остром бронхите 298  
 — — — — — различных заболеваниях 298  
 — — — — — туберкулезе легких 299  
 — — — — — хроническом бронхите 298  
 — — — — — приготовление мазка 279  
 — — — — — препаратов 278  
 — — — — — пробки Дитриха 277  
 — — — — — прозрачность 275  
 — — — — — простенище 291  
 — — — — — пузыри эхинококка 278  
 — — — — — свертки фибриновые 277  
 — — — — — свойства общие 274  
 — — — — — серозная 276  
 — — — — — слизистая 275  
 — — — — — слизисто-гнойная 276  
 — — — — — гнойно-кровянистая 276  
 — — — — — кровянистая 276  
 — — — — — собирание 274

Мокрота, спирали Куршмана 277, 284  
 — Spirochaeta Castellani 297  
 — — — — — icterohaemorrhagiae 298  
 — — — — — Vincenti 297  
 — — — — — спирохеты 297  
 — — — — — стафилококки 297  
 — — — — — стрептококки 297  
 — — — — — тельца асбестовые 287  
 — — — — — обнаружение, обработка мокроты антиформинном 288  
 — — — — — рисовидные 277  
 — — — — — тетрада Эрлиха 287  
 — — — — — thomlinx aerophilus 290  
 — — — — — фиксация мазка 279  
 — — — — — характер 275  
 — — — — — хранение 274  
 — — — — — цвет 275  
 — — — — — чечевицы 277  
 — — — — — шары жировые 293  
 — — — — — элементы клеточные 279  
 — — — — — патологические макроскопически видимые 277  
 — — — — — эозинофилы 280  
 — — — — — эпителий плоский 281  
 — — — — — цилиндрический 281  
 — — — — — эритроциты 281  
 — — — — — эхинококк 289  
 Молоко 656  
 — — — — — с лакмусом 656  
 — — — — — синькой 658  
 Молоточковый симптом, получение 118  
 Молочная сыворотка 655  
 Молочнокислые бактерии в желудочном содержимом 500  
 Момсена способ окраски токсической зернистости нейтрофилов 30  
 Monilia 460  
 — — — — — albicans 460  
 Монобласты 42  
 Мононуклеоз инфекционный, реакция Пауль-Буннеля 98  
 Моноцитарная система по Григоровой 42  
 Моноцитогамма 42  
 Моноциты 42  
 Мора соль, определение нормальности раствора 358  
 — — — — — способ определения хлора в моче 342  
 Моракс-Аксенфельда диплобацилла 755  
 Морозова способ серебрения 669  
 Моча 300  
 — — — — — азот, определение 348  
 — — — — — альбумозы 313  
 — — — — — определение 314  
 — — — — — аммиак, определение, значение диагностическое 350  
 — — — — — макроспособ 349  
 — — — — — микроспособ 350  
 — — — — — антипирин, определение 370  
 — — — — — ацетон, определение 328  
 — — — — — проба(ы) 327  
 — — — — — Ланге 327  
 — — — — — ацетоновые тела 327  
 — — — — — выделение 331  
 — — — — — определение, значение диагностическое 330  
 — — — — — белковое тело Бенс-Джонса 315  
 — — — — — белок 309  
 — — — — — определение, значение диагностическое 312  
 — — — — — качественное 310  
 — — — — — проба кольцевая (Геллера) 310  
 — — — — — с кипячением 310  
 — — — — — сульфосалициловой кислотой 310  
 — — — — — уксусной кислотой и хлористым натрием 311  
 — — — — — количество 311  
 — — — — — способ Брандберга (Робертс-Стольников) 311  
 — — — — — разведения мочи 312  
 — — — — — реакции 309  
 — — — — — удаление 313

Моча, вещества лекарственные, определение 370  
 — — — — — токсические, определение 361  
 — — — — — висмут, определение 371  
 — — — — — витамин В<sub>12</sub>, определение 359, 360  
 — — — — — вычисление 361  
 — — — — — значение клиническое 361  
 — — — — — С, определение 359  
 — — — — — галактоза 326  
 — — — — — гонококки, обнаружение 400  
 — — — — — гормоны гонадотропные, определение количественное 421  
 — — — — — диазореакция 341  
 — — — — — диастаза, определение 357  
 — — — — — желчные пигменты 331  
 — — — — — определение 331  
 — — — — — значение диагностическое 332  
 — — — — — проба Гмелина 331  
 — — — — — Гупперт-Сальковского 332  
 — — — — — Розина 332  
 — — — — — с реактивом Фуше 332  
 — — — — — трихлоруксусной кислотой 332  
 — — — — — запах 305  
 — — — — — индикан 339  
 — — — — — определение 339  
 — — — — — значение диагностическое 341  
 — — — — — количественное 340  
 — — — — — проба Обермейера 340  
 — — — — — Яффе 339  
 — — — — — инулин, определение 416  
 — — — — — исследование 300  
 — — — — — бактериологическое 399  
 — — — — — гормональное 418  
 — — — — — при гонорее 438  
 — — — — — опухолях почек 632  
 — — — — — раке мочевого пузыря 631  
 — — — — — полового члена 632  
 — — — — — физико-химическое 301  
 — — — — — кислота аскорбиновая, определение 358  
 — — — — — ацетоуксусная, определение 329  
 — — — — — проба(ы) 327  
 — — — — — Арнольд-Липлявского 330  
 — — — — — Герхардта 329  
 — — — — — Ланге 327  
 — — — — — Либена 328  
 — — — — — β-оксимасляная 327  
 — — — — — определение 330  
 — — — — — мочевая, определение, значение диагностическое 353  
 — — — — — титриметрическое по Гопкинсу и Фолину 352  
 — — — — — серная, определение общего количества 347  
 — — — — — свободная, определение 347  
 — — — — — хондроитинсерная 314  
 — — — — — кислотность истинная, определение 306, 307,  
 — — — — — изготовление растворов индикаторов 307  
 — — — — — кислоты желчные 333  
 — — — — — определение, значение диагностическое 333  
 — — — — — проба(ы) 333  
 — — — — — Гей 333  
 — — — — — клетки висмутовые 388  
 — — — — — типа сердечных пороков 388  
 — — — — — хвостатые 387  
 — — — — — эпителиальные 386  
 — — — — — количество 301  
 — — — — — концентрация водородных ионов 306  
 — — — — — копропорфирин, определение 338  
 — — — — — креатин, определение 352  
 — — — — — значение диагностическое 352  
 — — — — — креатинин, определение 351



Моча, креатинин, определение  
 значение диагностическое 352  
 — кристаллы сульфамидных пре-  
 паратов 397  
 — кровь, определение 336  
 — проба бензидиновая 337  
 — Вебера ван Дена 336  
 — Геллера 336  
 — кровяные пигменты, определение  
 336  
 — лейкоциты 388  
 — *milgossus ugae*, обнаружение  
 401  
 — мочевина, определение в аппара-  
 те Бородина 353  
 — — Коварского 357  
 — мышьяк, определение 365  
 — — качественное ориентиро-  
 вочное 366  
 — — количественное 367  
 — — реактивы 366  
 — нити уретральные 395  
 — определение концентрации пе-  
 нициллина 721  
 — палочка кишечная, обнаружение  
 400  
 — палочки тифозные, обнаружение  
 401  
 — — туберкулезные, обнаружение  
 399  
 — — — метод флотации 400  
 — паразиты 397  
 — — животные 397  
 — — двуустка кровяная 397  
 — — *eustrongylus gigas* 398  
 — — *filaria sanguinis hominis*  
 397  
 — — *oxyuris vermicularis* 398  
 — — *trichomonas vaginalis*  
 398  
 — — эхинококк 397  
 — — растительные 398  
 — — — грибки дрожжевые 398  
 — — — *penicillium glaucum* 398  
 — — плесени 399  
 — пентоза 326  
 — — определение 326  
 — пирамидон, определение 370  
 — порфирины 337  
 — — определение, значение диа-  
 гностическое 339  
 — — прегнандиол, определение по  
 Гутерману и Ордынец 422  
 — — — Ольшанецкому и Эпель-  
 баум 423  
 — — предохранение от загнивания  
 300  
 — препараты бромистые, опреде-  
 ление 370  
 — — иодистые, определение 370  
 — — салициловые, определение  
 370  
 — — хризофановой кислоты, опре-  
 деление 370  
 — прозрачность 304  
 — *proteus vulgaris*, обнаружение  
 401  
 — реакция 305  
 — — определение, значение диа-  
 гностическое 308  
 — — — качественное 305  
 — — — количественное 305  
 — — — значение диагности-  
 ческое 306  
 — — — посредством титрова-  
 ния 305  
 — — ртуть, определение 361  
 — — сантонин, определение 370  
 — — сахар виноградный 316  
 — — — определение 316  
 — — — качественное 316  
 — — — проба Бенедикта  
 316  
 — — — — Гайнеса 317  
 — — — — Ниландера 316  
 — — — — с брожением  
 318  
 — — — — фенилгидра-  
 зином 318  
 — — — — количественное 319

Моча, сахар виноградный, опреде-  
 ление количественное, способ  
 Альтгаузена 324  
 — — — — Бенедикта 322  
 — — — — при помощи поля-  
 ризационного аппарата 319, 320  
 — — — — упрощенное 323  
 — — — — молочный (лактоза) 325  
 — — — — определение 326  
 — — — — значение диагности-  
 ческое 326  
 — — — — фруктовый (левулеза) 325  
 — — — — определение, значение  
 диагностическое 325  
 — — — — качественное 325  
 — — — — количественное 325  
 — — — — свинец, определение 363  
 — — — — неорганических соеди-  
 нений 363  
 — — — — общего количества 364  
 — — — — сера, определение 347  
 — — — — значение диагностическое  
 348  
 — стафилококки, обнаружение  
 401  
 — стрептококки, обнаружение  
 401  
 — сульфамиды, определение 370  
 — танин, определение 370  
 — удельный вес 301  
 — — — — определение 302  
 — — — — значение диагности-  
 ческое 302  
 — — — — — при болезнях по-  
 чек 303  
 — — — — — повышение 303  
 — — — — — уменьшение 303  
 — — — — — уксуснобелковое тело 314  
 — — — — — уробилин 333  
 — — — — — определение 333  
 — — — — — значение диагностическое  
 335  
 — — — — — при помощи спектроскопа  
 333  
 — — — — — проба Ненцкого 334  
 — — — — — Флоранса 334  
 — — — — — Шлезингера 334  
 — — — — — уробилиноген 335  
 — — — — — уропорфириин, определение 337  
 — — — — — уророзин 333  
 — — — — — урохромы 342  
 — — — — — определение 342  
 — — — — — значение диагностическое  
 342  
 — — — — — фенацетин, определение 370  
 — — — — — фенол, определение 367, 370  
 — — — — — по Фолину 369  
 — — — — — посредством диазореак-  
 ции 367  
 — — — — — фенолы свободные, определение  
 368  
 — — — — — — связанные, определение 368  
 — — — — — — фосфаты, определение 345, 346  
 — — — — — — хинин, определение 372  
 — — — — — — хлор, определение 342  
 — — — — — — значение диагностическое  
 344  
 — — — — — способ Вольгардта 343  
 — — — — — — Мора 342  
 — — — — — — хранение 300  
 — — — — — — цвет 303  
 — — — — — — цилиндры 391  
 — — — — — — элементы клеточные 386  
 — — — — — — новообразований 395  
 — — — — — — эпителий мочевых каналъ-  
 цев 388  
 — — — — — — почечный 388  
 — — — — — — эритроциты 390  
 Мочевая кислота, кристаллы 389  
 Мочевые камни 401  
 — — — — — вторичные 401  
 — — — — — исследование 403  
 — — — — — мочекислые 402  
 — — — — — оксалатные 402  
 — — — — — первичные 401  
 — — — — — уратовые 402  
 — — — — — фосфатные 402  
 — — — — — цистиновые 402  
 Мочевой осадок, сперматозоиды 395  
 — — — — — песок 401

Мочевые осадки 373  
 — — — — — билирубин 385  
 — — — — — встречающиеся исключи-  
 тельно при заболеваниях 383  
 — — — — — гематоидин 385  
 — — — — — жир и жировые кристаллы  
 384  
 — — — — — жирные кислоты, ок-  
 раска по способу Левинсона 384  
 — — — — — загрязнение 395  
 — — — — — изучение 374  
 — — — — — индиго 386  
 — — — — — кислой мочи 378  
 — — — — — кальций сернокислый  
 382  
 — — — — — — фосфорнокислый  
 вторичный 381  
 — — — — — — щавелевокислый  
 380  
 — — — — — — кислота гиппуровая 381  
 — — — — — — мочевая 379  
 — — — — — — значение диагно-  
 стическое 379  
 — — — — — — соли мочекислые 378  
 — — — — — кристаллы фенилглюкозаона  
 386  
 — — — — — ксантин 384  
 — — — — — меланин 386  
 — — — — — неорганизованные 378  
 — — — — — свойства химические 386  
 — — — — — лейцин 384  
 — — — — — организованные 386  
 — — — — — цилиндриды 393  
 — — — — — цилиндры 391  
 — — — — — восковидные 393  
 — — — — — гемоглобиновые 393  
 — — — — — гмаллиновые 392  
 — — — — — зернистые 392  
 — — — — — из красных кровяных  
 клеток 394  
 — — — — — истинные 392  
 — — — — — коматозные 393  
 — — — — — ложные 394  
 — — — — — эпителиальные 392  
 — — — — — подсчет форменных элемен-  
 тов 375  
 — — — — — — вычисление 376  
 — — — — — — препараты микроскопиче-  
 ские, сохранение 376  
 — — — — — — способы пригото-  
 вления 373  
 — — — — — — тирозин 384  
 — — — — — — холестерин 385  
 — — — — — — цистин 383  
 — — — — — — щелочной мочи 382  
 — — — — — — аммиак-магнезия фос-  
 форнокислая (трипельфосфат)  
 382  
 — — — — — — аммоний мочекислый  
 383  
 — — — — — — земли фосфорнокис-  
 лые аморфные 382  
 — — — — — — известь фосфорнокис-  
 лая нейтральная 383  
 — — — — — — кальций углекислый  
 383  
 — — — — — — сростки 401  
 Мочекислые камни 402  
 — — — — — соли 378  
 Мошкова способ окраски плаз-  
 модиев малярии 67  
 Мурексидная проба 379  
 Муфель и Андреевой техника реак-  
 ции меланофлюкуляции при ма-  
 ларии 67  
 Муха способ окраски мокроты  
 292  
 Мышьяк, определение в моче 365  
 Мюллера среда 655  
 Мягкий шанкр, возбудитель 410  
 Мягкая вода 647  
 Мясной перелар основной по Хот-  
 тингеру 649  
 Мясо-пептонный агар 648  
 — — — — — бульон 648  
 Нанофита Шихобатовой 596  
 Nanophytes Schikhobalowi 596  
 Настойка лакмуса 652  
 Натр едкий, раствор децинормаль-  
 ный, приготовление 133



О-агглютинация 729  
 Обермейера проба 340  
 Объемный показатель крови 120  
 Окраска витальная 25  
 — суправитальная 25  
 Оксалаговые камни 402  
 Оксидазная реакция 28  
 — — реактивы 28  
 Оксидометрия, веса эквивалентные 769  
*Oxyuris vermicularis* 599  
 — — в моче 398  
 Олигоспермия 429  
 Ольта способ окраски 668  
 Онихомикозы плесневые 470  
 Ооциста 58  
*Opisthorchis felineus* 594  
 Опухоли мешеччатые (кисты), со-  
 держимое, исследование 618  
 Опыты на животных, техника вве-  
 дения заразного материала 738  
 — — — указания общие 737  
 — — — фиксация животных 738  
 Осадочные реакции 87  
 — — оценка 90  
 Оспа, картина крови 53  
 Острица 549  
 — значение патогенное 600  
 — цикл жизненный 599

Печень, проба функциональные  
реакция Таката-Ара 524

— способность функциональная  
суммарная, определение 527

— функция 513

— — пигментная 514

— — — пробы, вычисление билирубинового показателя 519

— — — определение билирубина сыворотки по ван ден Бергу 514

— — — — — Герифельду и Бокальчуку 518

— — — — — с выделением билирубина 519

Пиодермия 470

Пипетка(и) градуированные 128

— калиброванные 127

— капельная Рона 233

Пиркетта реакция 759

Питательная(ые) среда(ы) 644

— — бромкрезоловая 653

— — Гисса 656

— — Гисса для кокков 657

— — для анаэробов 659

— — бактерий кишечной группы 653

— — — микробов кокковой группы 657

— — — туберкулезных палочек 659

— — Дьедонне 657

— — Зейферта 654

— — из полуфабрикатов 647

— — индикаторы 652

— — Кауфмана 656

— — Левина 654

Питательная среда Мюллера 655

— — Петраньяни 659

— — pH, определение 645

— — приготовление 644

— — разлива 646

— — Рапопорт 655

— — реакция 644

— — Ресселя 656

— — рецепты и технология приготовления 647

— — Робинсон-Стовалл 659

— — с конгокраситом 653

— — Сабуро 445

— — сухие 660

— — Тароцци 659

— — фильтрование 646

— — Шустовой 656

— — Эндо 654

— — яичная Любенау 659

Питательный бульон основной, приготовление 644

Pityriasis versicolor 461

Пиявка 389

— определение места происхождения 389

Пищевые токсикоинфекции, возбудители 748

— — — определение 750

— — — исследование извержений бактериологическое 749

— — — и крови пострадавших 748

— — — испражнений 749

— — — крови 751

— — — материал 748

— — — рвотных масс 749

Плазма, определение инулина 416

Плазматические клетки 43

Плазмодии малярии 57

— виды 59

— — диагностика дифференциальная 63

— — изменения пораженных эритроцитов 64

— — исследование в мазках 65

— — — толстой капле 62

— — меруляция 59

— — окраска, способ Мошковского 66

— — — Шуренковой 65

— — — способы специальные 65

— — спорогония 57

— — цикл развития 57

— — шизогония 57

[illegible]



*Plasmodium falciparum* 60  
 — *malariae* 60  
 — цикл развития 60  
 — шизонты 60  
 — *ovale* 62  
 — *vivax* 59  
 — цикл развития 59  
 Плевральная жидкость, исследование при раке легкого 633  
 Плесневые грибки 469  
 Пневмоцилла Фридлендера 296  
 Пневмококк(и) 295, 680  
 — значение этиологическое 295  
 — микроагглютинация 742  
 — морфология 295  
 — обнаружение и типирование путем экспериментов на животных 741  
 — типирование в мокроте феноменом набухания Нейфельда 743  
 Пневмония крупозная, картина крови 51  
 Поджелудочная железа, кисты, содержание, исследование 619  
 Функциональная проба 164, 237  
 Пойкилоцитоз 33  
 Полежаева микрометод определения иона ртути 362  
 Полибласты раневого экссудата 621  
 Полиморфноцит 42  
 Полиурия ночная 301  
 Полицитемия, картина крови 47  
 Поляризатор 319  
 Поляриметр 319  
 Посев аэробов, техника 660  
 Посевы в анаэробных условиях 663  
 — способ (ы) 663  
 — Аристовского 664  
 — Бухнера 663  
 — Виньял-Вейона 663  
 — Тароцци 664  
 — Цейслера 664  
 — техника 660  
 Посуда для бактериологических исследований 637  
 Почечный песок 401  
 Почки, исследование функциональной способности 404  
 — методы физиологические 404  
 — нагрузка мочевиной 407  
 — хлористым натрием 406  
 — чужеродными веществами 409  
 — щелочью 406  
 — техника 407  
 — значение диагностическое 407  
 — очищение крови от чужеродных веществ 416  
 — по Зимницкому 408  
 — химическому составу крови 410  
 — определение в крови азотистых продуктов обмена 411  
 — проба индигокарминовая 409  
 — креатининовая Реберга 415  
 — с разведением и концентрацией 405  
 — с фенолсульфонфтаleineм 409  
 — при двусторонних процессах 410  
 — односторонних процессах 410  
 — сравнением состава крови и мочи 412  
 — определение мочевиновыделительной функции 412  
 — вычисление 413, 414  
 Поясничная проба 253  
 Прегнандиол, определение в моче по Гутерману и Ордынец 422  
 — Олышанскому и Эпельбаум 423  
 Предтеченская реакция 704

Предтеченского сетка 14  
 Преципитации реакция 729  
 Прибор Бородин 353  
 Проба Бюрне 761  
 — инъекционная Гесса 118  
 — Квика 526  
 — кожно-пластырная Волпера 763  
 — креатининовая Реберга 415  
 — мурексидная 379  
 Пробирка Бухнера 663  
 Пробки Дитриха 277  
 — резиновые 130  
 Пробная диета по Певзнеру 529  
 Проказа, форма кожная 471  
 Промиециты 36  
 Промоциты 42  
 Простатический сок, исследование при гонорее 438  
 Простейшие 57, 559  
 — классы 57, 559  
*Proteus*, свойства культуральные и ферментативные 751  
 — *vulgaris* в моче, обнаружение 401  
 Протромбин 107  
 — определение, метод Квика 113  
 — модификация Боровской и Ровинской 115  
 — Кудряшева 114  
 Псаммозные тельца 635  
 Псевдоагглютинация при определении групп крови 103  
 Пульфриха рефрактометр 170  
 Пункция костного мозга 55  
 Разводящие жидкости 16  
 Райта реакция 735  
 — способ окраски мазков крови 23  
 Раневое отделяемое, исследование без заведомого указания на предполагаемого возбудителя 752  
 Раневой процесс, периоды 622  
 Раневой экссудат, значение диагностическое появления различных клеточных форм 621  
 — исследование 619  
 — взятие материала 619  
 — изучение цитогаммы 620  
 — дегенерация нейтрофилов 620  
 — окраска мазков 619  
 — макрофаги-гистиоциты 622  
 — полибласты 621  
 Рапорт среда 655  
 Растворы гипосульфита натрия децинормальный, приготовление 135  
 — едкого натра децинормальный, приготовление 133  
 — йода децинормальный, приготовление 136  
 — иодноватокислого калия децинормальный, приготовление 136  
 — марганцовокислого калия децинормальный, приготовление 134  
 — молярные фосфатов, приготовление 136  
 — нормальные, приготовление из концентрированных 767  
 — соляной кислоты нормальной, приготовление 132  
 — точные, приготовление и хранение 130  
 — щавелевой кислоты децинормальный, приготовление 135  
 — янтарной кислоты децинормальный, приготовление 133  
 Растворимость солей 763  
 Растительные клетки, симулирующие яйца глистов 679  
 Рвота ацетонемическая 331  
 Рвотные массы 473  
 Рвотные массы, исследование 473  
 — количество 473  
 — состав 473

Рвотные массы, характер 174  
 — цвет 473  
 Реактив фосфорновольфрамовый, приготовление 208  
 Реакция(и) агглютинации 727  
 — риккетсий 735  
 — Анри 67  
 — Ашгейм-Цондека с разведенной мочой 420  
 — Барберио-Чевидалли 431  
 — Борде-Жангу 92  
 — Вайнштейн-Резникова 86  
 — Вассермана 73  
 — техника 75  
 Реакция Вейль-Феликса 733  
 — Вейнберга 91  
 — Вейхбротта 261  
 — Вельтмана 525  
 — Видаля 730  
 — внутрикожные, техника 759  
 — Гате-Папакоста 441  
 — глобулиновые 259  
 — Григорьева-Рапорт 85  
 — Деен-Вебера 547  
 — Дика 763  
 — Донна 305  
 — Кана 89  
 — кожные аллергические 759  
 — токсические 763  
 — Крафта 326  
 — Ланге 263  
 — Левинсона 261  
 — лимфатические 41  
 — Манту 760  
 — мастичная 266  
 — меланофлюкуляции при малярии 67  
 — техника по Муфель и Андреевой 67  
 — нитрозоиндоловая 706  
 — Нонне-Апельта 259  
 — Нэпир 71  
 — оксидазная 28  
 — осадочные 87  
 — оценка 90  
 — Панди 260  
 — Пауль-Буннеля 98  
 — пероксидазная 29  
 — Пиркетта 759  
 — значение диагностическое 760  
 — Предтеченского 704  
 — преципитации 87, 729  
 — просветления Мейнике 87  
 — Райта 735  
 — Ривальта 612  
 — связывания комплемента 72  
 — методы количественные 98  
 — модификации 96  
 — Калинина и Гинзбург 96  
 — Кауп 97  
 — при бруцеллезе 94  
 — гонорее 93  
 — риносклероме 94  
 — при циститеркозе 95  
 — сущность 73  
 — серологические при инфекционных заболеваниях 725  
 — сифилисе, значение диагностическое 90  
 — Соханского 613  
 — Таката-Ара 262, 524  
 — Трибуле 555  
 — Флоранса 431  
 — формоловая Гате-Папакоста 71  
 — Фрея 441  
 — Хеддльсона 735  
 — цитохоловая Зако-Витебского 88  
 — Шика 763  
 Реберга проба креатининовая 415  
 Резус-фактор 104  
 — значение при переливании крови 105  
 — определение 106  
 Ресничные 576  
 Ресселя среда 656











Фактор распространения микробов, определение 745  
*Fasciola hepatica* 592  
 Фенол, определение в моче 367  
 Феномен жгута, получение 117  
 — Тиндаля 176, 434  
 — уколочный Коха 118  
 Феномены сосудистые, вызывание, способы 117  
 Фибрин-фермент, определение количества по методу Вольгемута 116  
 Фибриноген 107  
 — определение 117  
*Filaria sanguinis hominis* в моче 397  
 Фильтры с пластинкой из стекла, промывание 129  
 Финклера и Приора вибрион 706  
 Финны 584  
 Фиске и Себерроу способ определения фосфатов в крови 217  
*Flagellata* 571  
 Флоранса проба 334  
 — реакция 431  
 Фолина способ определения креатинина и креатина крови 202  
 — — — фенола в моче 369  
 Фонио способ определения количества тромбоцитов 44  
 — — — скорости свертывания крови 111  
 Фосфорная буферная смесь 655  
 Фосфатовые камни 402  
 Фосфаты, растворы молярные, приготовление 136  
 Фосфатаза крови 236  
 Фотометр 146  
 — установка лампы 147  
 — устройство 146  
 — часть оптическая 148  
 — — осветительная 147  
 Фотометр 146  
 — выбор фильтра 152  
 — вычисление 151  
 — сосуды для исследования 149  
 — ход исследования 150  
 Франка игла 7  
 Фрейфельд способ окраски токсической зернистости нейтрофилов 30  
 — — — определения скорости свертывания крови 109  
 Фрея реакция 441  
 Фруан-Нонне синдром 271  
 Фукс-Розенталя камера 254  
 Фуксин Циля карболовый 668  
 Фюллеборна способ концентрации яиц глистов 580  
 Н-агглютинация 729  
 Хагедорна и Иенсена способ определения сахара крови 158  
 Хеддльсона реакция 735  
 Хиломастикс 574  
 Хилурия европейская 385  
 — тропическая 385  
 Хирургический материал, испытание на стерильность 756  
 — — — выемка материала и методика его посева 757  
 — — — — методика 756  
 Хлорный показатель 495  
 Хлороз, картина крови 50  
 Холебилирубин 520  
 Холерные вибрионы 704  
 — колонии 706  
 — обнаружение 704  
 — — исследование бактериологическое 705  
 — — — — посевы 705  
 — — — — микроскопическое 705  
 — — — — материал для исследования 704  
 — — — — — собиране 704  
 — — — — — материал из трупа, исследование 705  
 — — — — — указания общие 704  
 Холерные вибрионы, реакция нитрозоиндоловая 706

Холероподобные вибрионы 706  
*Chonorchis sinensis* 595  
 Хоттингера бульон 650  
 Хоттингера способ приготовления основного мясного перевара 650  
 Хроматоидные тельца 567  
 Хромомироз 467  
 — возбудители 467

Цветной показатель крови 11  
 — — — вычисление 11  
 Цейсса камера счетная 13  
 Цейслера способ посева в анаэробных условиях 664  
 Цепень вооруженный 587  
 — карликовый 589  
 — крысиный 590  
 — невооруженный 588  
 — тыквовидный 590  
 — эхинококка 590  
 Цервикальный канал, отделяемое, картина бактериоскопическая 439  
 Цестоды 583  
 Цилиндромы 393  
 Цилиндры восковидные 393  
 — гемоглобиновые 393  
 — гиалиновые 392  
 — зернистые 392  
 — коматозные 393  
 — ложные 394  
 — эпителиальные 392  
 Циля-Нильсена окраска 668  
 — — — мокроты 292  
 Циля фуксин карболовый 668  
 Цимана зернистость эритроцитов 61  
 — трубка 697  
 Цистин 383  
 Цистиновые камни 402  
 Цистицеркоз, реакция связывания комплемента 95  
 Цитохоловая реакция Закс-Витебского 88

Чапин-Липшютца язва вульвы острая 428  
 Черви круглые 595  
 Чесотка 472  
 Чесоточные ходы 472  
 Четвертая венерическая болезнь 441

Шарко-Лейдена кристаллы 286  
 Шейнлейн-Геноха болезнь, картина крови 50  
 Шига палочка 696  
*Shigella*, свойства культуральные, ферментативные и серологические 695, 696  
 Шизонты 57  
 Шика реакция 763  
 Шистосома Мансона 595  
*Schistosoma haematobium* в моче 397  
 — *mansoni* Sambon 595  
*Schizotrypanum* Chagas 69  
 — *Cruzi* 69  
 — переносчики 69  
 Школьниковой метод выращивания туберкулезных палочек 716  
 Шлезингера проба 334  
 Шмелева способ окраски токсической зернистости нейтрофилов 31  
 Шпенглера окраска мокроты 292  
 Штольтенберга краска 667  
 Штуцер-Шмитц палочка 696  
 Шульца способ определения скорости свертывания крови 111  
 Шуренковой способ окраски плазмодиев малярии 66  
 Шустовой среда 656  
 Шюфнеровская зернистость эритроцитов 60

Щавелевая кислота, раствор децинормальный, приготовление 135  
 Щелочи, содержание вещества в продажных концентрированных растворах 766  
 Экссудаты 611  
 — белок, определение 612  
 — геморрагические 616  
 — гнилостные 616  
 — гнойные 616  
 — дифференцирование от трансудатов 612  
 — исследование бактериоскопическое 615  
 — — без заведомого указания на предполагаемого возбудителя 752  
 — — серологическое 615  
 — — химическое 612  
 — — цитологическое 613  
 — — — приготовление препаратов 613  
 — псевдохилезные 617  
 — свойства 612  
 — — отличительные 611  
 — — серозно-гнойные 616  
 — — серозные 615  
 — характеристика дифференциальная 615  
 — хилезные 617  
 — хилусоподобные 617  
 — элементы клеточные 614  
 Экстинкция, показатели 155, 156, 157  
 Энгельгардта и Герчука способ определения диастазы в крови 235  
 — и Смирновой способ определения холестерина в крови 213  
 Эндо агар 689  
 — среда 655  
 Эндокардит подострый, картина крови 53  
 Эндотелиальные клетки 42  
 Энтеролиты 558  
 — формы 558  
 Эозинофилия 39  
 Эозинофильные лейкоциты 38  
 Эпидермофития 455  
 — возбудители, культуры 458  
 Эпидермофитиды кистей 456  
 Эпидермофития паховая 455  
 — стоп 456  
 — — диагностика микроскопическая 457  
 — — формы 456  
 Эпителиальные цилиндры 392  
 Эритразма 462  
 — возбудитель 462  
 Эритропоз 6  
 Эритроциты 5, 33  
 — базофильнозернистые 28  
 — для определения групп крови, добывание 101  
 — зернистость базофильная 34  
 — — Цимана 61  
 — — шюфнеровская 60  
 — изменение величины 33  
 — изменения при поражении малярийными паразитами 64  
 — — формы 33  
 — количество нормальное 33  
 — объем 120  
 — — определение 43, 120  
 — окраска 33  
 — — базофильной зернистости 27  
 — — — значение диагностическое 28  
 — — — — техника 27  
 — подсчет 12  
 — — камеры счетные 12  
 — — разводящие жидкости 16  
 — — техника 18, 19  
 — полихромазия 34  
 — полихроматофилия 34  
 — пятнистость мауреровская 61  
 — резистентность, определение 121



Эритроциты, резистентность, определение, значение диагностическое 122  
 — скорость оседания, замедление 125  
 — — — — — определение 122  
 — — — — — значение диагностическое 125  
 — — — — — источники ошибок 124  
 — — — — — микроспособ Панченкова 123  
 — — — — — способ Вестергрена 123  
 — — — — — техника 123  
 — — — — — ускорение 125  
 — счетчики для них 15  
 — стандартные для определения групп крови 102

Эрлиха гематоксиллин, приготовление 426  
 — — — — — диазореакция 341  
 — — — — — тетрада 287  
 Эрмана завтрак пробный спиртовой 480  
 Эхинококк 590  
 — — — — — диагностика лабораторная 592  
 — — — — — цикл жизненный 591  
 Эхинококковые кисты, содержимое, исследование 618  
 Эхинококкоз, реакция Вейнберга 91  
 — — — — — кожная аллергическая 762  
 Ядерный показатель левого сдвига нейтрофилов 37  
 Яичная среда Любенау 659

Яичник, кисты, содержимое, исследование 618  
 — — — — — функция гормональная, тесты 425  
 Яйца глистов, концентрация, способ(ы) 580  
 — — — — — Горкиной 581  
 — — — — — Калантарян 582  
 — — — — — Телемана 580  
 — — — — — Фюллеборна 580  
 — — — — — обнаружение, способ соскоба 582  
 — — — — — клещей, симулирующие глисты и их яйца 608  
 Яновского способ определения резистентности эритроцитов 122  
 Янтарная кислота, раствор, лецитин, нормальный, приготовление 133  
 Яффе проба 339



## ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие . . . . .	3
-----------------------	---

### ОТДЕЛ ПЕРВЫЙ

### КРОВЬ

#### Глава первая

#### Морфологическое исследование крови

Общие замечания к морфологическому исследованию крови . . . . .	5
Определение количества гемоглобина . . . . .	8
Подсчет форменных элементов в камере . . . . .	12
1) Счетные камеры . . . . .	12
2) Сетки . . . . .	13
3) Смесители . . . . .	15
4) Разводящие жидкости . . . . .	16
5) Техника взятия крови в смеси . . . . .	17
6) Техника наполнения камеры и подсчета форменных элементов . . . . .	18
7) Пределы точности подсчета форменных элементов крови . . . . .	20
Окраска мазков . . . . .	21
1) Техника приготовления мазка . . . . .	21
2) Фиксация мазка . . . . .	22
3) Окраска азур-эозиновыми смесями . . . . .	23
4) Окраска ретикулоцитов . . . . .	25
а) Суправитальная (агональная) окраска. б) Счисление ретикулоцитов. в) Диагностическое значение	
5) Окраска базофильной зернистости эритроцитов . . . . .	28
а) Техника окраски. б) Диагностическое значение	
6) Окраска телец Гейнца . . . . .	28
7) Оксидазная и пероксидазная реакции . . . . .	29
8) Токсическая зернистость нейтрофильных лейкоцитов . . . . .	30
а) Окраска по Фрейфельд. б) Окраска по Момсену. в) Окраска по Шмелеву	
Изучение окрашенного мазка . . . . .	32
1) Красная кровь . . . . .	33
2) Белая кровь . . . . .	34
3) Техника подсчета лейкоцитарной формулы . . . . .	35
а) Нейтрофильные лейкоциты. б) Эозинофильные лейкоциты. в) Базофильные лейкоциты. г) Лимфоциты. д) Моноциты. е) Моноцитарная система по Григоровой. ж) Эндотелиальные клетки. з) Клетки раздражения Тюрка. и) Плазматические клетки	
4) Тромбоциты . . . . .	43
Картина крови при некоторых заболеваниях . . . . .	45
1) Болезни кроветворных органов . . . . .	45
а) Агранулоцитоз. б) Пернициозная анемия. в) Острая гемолитическая анемия. г) Полицитемия. д) Лейкемия. е) Ангина с лимфоцитарной и моноцитарной реакцией. ж) Болезнь Верльгофа. з) Гемофилия. и) Болезнь Шейнлейн-Геноха	
2) Анемия при различных заболеваниях . . . . .	49
а) Анемии после кровотечений. б) Анемия при нефрите. в) Раковые анемии. г) Малокровие у беременных женщин. д) Хлороз. е) Ахилическая анемия	



3) Инфекционные и воспалительные процессы . . . . .	51
а) Крупозная пневмония. б) Брюшной тиф. в) Паратифы. г) Сып- ной тиф. д) Скарлатина. е) Корь. ж) Краснуха. з) Коклюш. и) Оспа. к) Дифтерия. л) Подострый эндокардит, вызванный зеленеющим стреп- тококком. м) Лимфогрануломатоз. н) Грипп. о) Сепсис. п) Тубер- кулез. р) Малярия. с) Аппендицит	
Пункция костного мозга . . . . .	55

## Глава вторая

### Исследование крови на наличие простейших и спирохет

А. Простейшие . . . . .	56
1. Плазмодии малярии . . . . .	57
1) Цикл развития . . . . .	57
2) Виды плазмодиев . . . . .	59
а) <i>Plasmodium vivax</i> — паразит трехдневной лихорадки. б) <i>Plasmo-</i> <i>dium malariae</i> — паразит четырехдневной лихорадки. в) <i>Plasmodium fal-</i> <i>ciparum</i> — паразит тропической лихорадки. г) <i>Plasmodium ovale</i>	
3) Исследование плазмодиев в толстой капле . . . . .	62
4) Исследование в мазках . . . . .	65
5) Специальные способы окраски . . . . .	65
а) Способ Щуренковой. б) Способ Мойковского	
6) Реакция меланофлюкуляции при малярии . . . . .	67
2. Трипаномы . . . . .	68
а) <i>Trypanosoma gambiense</i> — возбудитель африканского трипано- сомиоза. б) <i>Schizotrypanum Cruzi (Chagas)</i> — возбудитель американского трипаномиоза	
3. Лейшмании . . . . .	69
1) Морфология . . . . .	70
2) Исследование пунктата грудины . . . . .	70
3) Формоловая реакция (Гатепалакоста) . . . . .	70
Б. Спирохеты возвратного тифа . . . . .	71

## Глава третья

### Реакция связывания комплемента и осадочные реакции

Реакция Вассермана . . . . .	73
1) Посуда и предметы оборудования . . . . .	74
2) Приготовление отдельных ингредиентов . . . . .	75
а) Физиологический раствор. б) Эритроциты барана. в) Гемолити- ческая сыворотка. г) Комплемент. д) Антиген. е) Заведомо сифилис- ческие и нормальные сыворотки. ж) Кровь больного	
3) Основной опыт . . . . .	83
4) Реакция Вассермана со спинномозговой жидкостью . . . . .	84
5) Активные модификации реакции Вассермана . . . . .	85
а) Метод Григорьева-Раппопорт. б) Упрощенный активный метод Вайнштейн-Резниковой	
Осадочные реакции (реакция преципитации) . . . . .	87
1) Реакция просветления Мейнике (MKR) . . . . .	87
2) Цитохолевая реакция Заке-Витебского . . . . .	88
3) Реакция Кана . . . . .	89
4) Оценка осадочных реакций . . . . .	90
Диагностическое значение серологических реакций при сифилисе . . . . .	91
Реакция Вейнберга при эхинококкозе . . . . .	92
Реакция Борде-Жангу при тонзиллите . . . . .	94
Реакция связывания комплемента при риносклероме . . . . .	94
Реакция связывания комплемента при бруцеллезе . . . . .	95
Реакция связывания комплемента с другими бактериальными антигенами . . . . .	95
Реакция связывания комплемента при цистицеркозе . . . . .	95
Модификации реакции связывания комплемента . . . . .	96
1) Модификация Калинина и Гинзбург . . . . .	97
2) Модификация Каупа . . . . .	98
3) Длительное холодное связывание комплемента . . . . .	98
4) Количественные методы реакции связывания комплемента . . . . .	98
Реакция Пауль-Буннеля при инфекционном мононуклеозе . . . . .	98



## Глава четвертая

### Определение групп крови

Группы крови системы А, В, О . . . . .	100
1) Характеристика групп . . . . .	100
2) Методика определения . . . . .	100
а) Эритроциты исследуемого лица. б) Стандартные сыворотки.	
в) Стандартные эритроциты. г) Ход определения	
3) Возможные погрешности при определении . . . . .	102
4) Подгруппы . . . . .	103
5) Источники ошибок . . . . .	103
6) Перекрестная проба на совместимость . . . . .	104
7) Клиническое значение определения групп . . . . .	104
Резус-фактор . . . . .	104

## Глава пятая

### Физико-химическое исследование крови

Определение сухого остатка крови . . . . .	106
Определение скорости свертывания крови . . . . .	107
1) По Ситковскому-Егорову . . . . .	108
2) По Фрейфельд . . . . .	109
3) По Бюркеру . . . . .	109
4) По Мас и Магро . . . . .	110
5) По Шульцу . . . . .	111
6) По Фонио . . . . .	111
Определение растяжимости и сопротивляемости сгустка . . . . .	111
Определение «валентности» крови . . . . .	112
Определение ретракции кровяного сгустка . . . . .	113
Определение протромбина (принцип Квика) . . . . .	113
Определение протромбина по модификации проф. Кудряшевз . . . . .	114
Определение протромбина по модификации Д. П. Боровской . . . . .	115
Определение количества фибрин-фермента . . . . .	116
Определение фибриногена . . . . .	117
Определение продолжительности кровотечения . . . . .	117
Методика способов вызывания сосудистых феноменов . . . . .	117
Определение вязкости крови . . . . .	118
Определение объема эритроцитов . . . . .	120
Определение резистентности эритроцитов . . . . .	121
Определение скорости оседания эритроцитов . . . . .	122
1) Микроспособ Панченкова . . . . .	123
2) Способ Вестергрена . . . . .	123
3) Источники ошибок . . . . .	124
4) Диагностическое значение . . . . .	125

## Глава шестая

### Химическое исследование крови

А. Общие указания по химическому исследованию . . . . .	126
Подготовка посуды для химического исследования . . . . .	126
1) Мытье стеклянной посуды . . . . .	126
2) Проверка мерной стеклянной посуды . . . . .	127
3) Очистка ртути . . . . .	129
4) Промывание фильтров с пластинкой из стекла . . . . .	129
5) Краны бюреток . . . . .	130
6) Резиновые пробки и трубки . . . . .	130
Приготовление и хранение точных растворов . . . . .	130
1) Приготовление нормального раствора соляной кислоты . . . . .	132
2) Приготовление децинормального раствора янтарной кислоты . . . . .	133
3) Приготовление децинормального раствора едкого натра . . . . .	133
4) Приготовление децинормального раствора марганцовокислого калия . . . . .	134
5) Приготовление децинормального раствора щавелевой кислоты или щавелево-кислого натрия . . . . .	135
6) Приготовление децинормального раствора гипосульфита натрия . . . . .	135
7) Приготовление децинормального раствора иодноватокислого калия или дву-иодноватокислого калия . . . . .	136



8) Приготовление децинормального раствора нора . . . . .	136
9) Приготовление молярных растворов фосфатов . . . . .	136
Приготовление буферных смесей . . . . .	137
1) Фосфатные буферные смеси . . . . .	137
2) Ацетатные буферные смеси . . . . .	138
3) Кислая буферная смесь . . . . .	138
4) Барбитуровые буферные смеси . . . . .	138
Приготовление индикаторов . . . . .	139
Несколько замечаний к пользованию весами . . . . .	139
1) Пользование аналитическими весами . . . . .	139
2) Пользование торзионными (крутильными) весами . . . . .	140
Колориметрия . . . . .	141
1) Компаратор . . . . .	141
2) Колориметр Дюбоска . . . . .	141
3) Колориметр Аутенрига . . . . .	144
4) Калибровка клина . . . . .	146
Фотометрия . . . . .	146
1) Принцип устройства фотометра . . . . .	146
2) Осветительная часть прибора . . . . .	147
3) Оптическая часть прибора . . . . .	148
4) Ход фотометрирования . . . . .	150
5) Вычисление . . . . .	151
Предупреждение свертывания . . . . .	152
Получение безбелкового фильтрата . . . . .	155
1) Осаждение трихлоруксусной кислотой . . . . .	155
2) Осаждение вольфрамовой кислотой по Фолину и др. . . . .	156
3) Осаждение фосфорно-молибденовой кислотой . . . . .	157
Б. Химическое исследование крови и его значение . . . . .	159
Определение сахара . . . . .	159
1) Способ Хагедорна и Иенсена . . . . .	162
2) Диагностическое значение . . . . .	164
Определение молочной кислоты . . . . .	165
1) Описание аппарата . . . . .	165
2) Ход определения . . . . .	167
3) Диагностическое значение . . . . .	167
Определение пировиноградной кислоты . . . . .	168
Диагностическое значение . . . . .	168
Определение ацетоновых тел и $\beta$ -оксимасляной кислоты . . . . .	170
Диагностическое значение . . . . .	170
Количественное определение белков сыворотки . . . . .	170
1) Рефрактометрический способ . . . . .	
а) Описание прибора. б) Определение общего количества белка.	
в) Определение белковых фракций . . . . .	176
2) Нефелометрический способ . . . . .	
а) Описание прибора. б) Определение альбуминов и глобулинов . . . . .	179
3) Диагностическое значение . . . . .	179
Определение остаточного азота . . . . .	180
1) Определение остаточного азота по Кьельдалю . . . . .	
а) Полумикроопределение. б) Микроопределение. в) Определение азота в специальном аппарате. г) Микроопределение азота без перегонки . . . . .	
2) Микроопределение остаточного азота колориметрическим способом (по Аселю) . . . . .	186
3) Диагностическое значение . . . . .	189
Определение азота аминокислот . . . . .	190
1) Колориметрическое определение . . . . .	192
2) Газометрическое определение по ван Слайку . . . . .	195
Определение полипептидов . . . . .	198
Определение мочевины . . . . .	198
1) По способу с урезкой . . . . .	200
2) По способу с бромистой щелочью . . . . .	202
Определение креатинина и креатина . . . . .	204
Диагностическое значение . . . . .	205
Ксантопротеиновая реакция . . . . .	205
Диагностическое значение . . . . .	206
Определение индикана . . . . .	207
Диагностическое значение . . . . .	207
Определение мочевой кислоты . . . . .	



1) Полумикроопределение . . . . .	208
а) По новому способу. б) По старому способу . . . . .	
2) Микроспособ определения по Бенедикту . . . . .	211
3) Диагностическое значение . . . . .	212
Определение холестерина . . . . .	212
1) По способу Аутенрита и Функа . . . . .	212
2) По способу Энгельгардта и Смирновой . . . . .	213
3) Диагностическое значение . . . . .	215
Определение фосфатов . . . . .	215
1) По способу Белл-Дойзи-Бриггса . . . . .	216
2) По способу Фиске и Себерроу . . . . .	217
3) Микроопределение неорганического фосфора с хлористым оловом . . . . .	218
4) Фосфор липоидов (лецитин) . . . . .	220
5) Диагностическое значение . . . . .	220
Определение хлора . . . . .	221
1) По способу Рушняка . . . . .	221
2) Иодометрический способ (Прикладовицкого и Аполлонова) . . . . .	222
3) Диагностическое значение . . . . .	223
Определение кальция . . . . .	223
Диагностическое значение . . . . .	226
Определение калия . . . . .	227
Диагностическое значение . . . . .	229
Определение натрия . . . . .	229
Определение железа в сыворотке и плазме . . . . .	231
1) Определение общего железа . . . . .	231
2) Определение легко отщепляющегося железа . . . . .	232
3) Диагностическое значение . . . . .	232
Ферменты крови . . . . .	233
1) Определение липазы . . . . .	233
а) Определение общего количества липазы. б) Определение атоксил-резистентной липазы . . . . .	
2) Определение каталазы . . . . .	224
3) Определение диастазы (амилазы) по Энгельгардту и Герчуку . . . . .	235
4) Определение фосфатазы . . . . .	237
а) Фосфатаза щелочная. б) Фосфатаза кислая . . . . .	
Распознавание амилоида . . . . .	238
Определение газов крови . . . . .	240
1) Определение щелочного резерва плазмы по ван Слайку . . . . .	240
Диагностическое значение . . . . .	244
2) Определение кислорода крови в манометрическом аппарате ван Слайка . . . . .	247
а) Определение кислородной емкости крови. б) Определение степени насыщения крови кислородом. в) Диагностическое значение . . . . .	

## ОТДЕЛ ВТОРОЙ СПИННОМОЗГОВАЯ ЖИДКОСТЬ

Общие свойства . . . . .	253
1) Цвет . . . . .	253
2) Прозрачность . . . . .	254
3) Удельный вес . . . . .	254
Цитологическое исследование . . . . .	254
1) Счет форменных элементов . . . . .	254
2) Дифференцирование клеточных элементов . . . . .	256
Бактериоскопическое исследование . . . . .	257
1) Туберкулезная палочка . . . . .	257
2) Менингококк . . . . .	258
3) Другие возбудители гнойного менингита . . . . .	258
Химическое исследование . . . . .	258
1) Общее количество белка . . . . .	258
2) Глобулиновые реакции . . . . .	259
а) Реакция Нонне-Апельта (фаза I) — оригинальный способ и модифицированный по Росс-Джонсу. б) Реакция Панди. в) Реакция Вейх-брота . . . . .	
3) Тригофановая реакция . . . . .	261
4) Реакция Левинсона . . . . .	261
5) Определение сахара . . . . .	261

6) Опреде  
7) Опреде  
Действие на ве  
Коллоидные ре  
1) Реакция Т  
2) Реакция с ко  
3) Мазочная реак  
Серологическое исслед  
Спинномозговая жидк  
1) Гнойный менингит  
2) Туберкулезный менингит  
3) Серозный менингит  
4) Эпидемический паротит  
5) Полиомиелиоз  
6) Острые и хронические воспаления  
7) Абсцессы головного мозга  
8) Опухоли головного мозга  
9) Циститцеркоз  
10) Послеоперационные изменения  
11) Сифилис  
12) Метастазы  
а) литическая система  
13) Схемы и

Общие свойства  
1) Суточные колебания  
2) Запах  
3) Цвет и прозрачность  
4) Деление на фракции  
Характер микроскопического исследования  
1) Слизистые  
2) Слизистые  
3) Гнойные  
4) Кроветворные

Исследование  
Макроскопическое  
1) Спинномозговая жидкость  
2) Зернистость  
3) Цвет  
4) Флуоресценция  
5) Прозрачность  
6) Деление на фракции  
7) Прозрачность  
8) А  
9) Н  
10) Н  
11) Н

Приготовление  
1) Спинномозговая жидкость  
2) Клеточный осадок  
1



6) Определение хлоридов . . . . .	262
7) Определение мочевины . . . . .	262
Лекарственные вещества . . . . .	262
Коллоидные реакции . . . . .	262
1) Реакция Таката-Ара . . . . .	263
2) Реакция с коллоидным золотом . . . . .	266
3) Мастичная реакция . . . . .	267
Серологическое исследование . . . . .	267
Спинальная жидкость при различных заболеваниях . . . . .	267
1) Гнойный менингит . . . . .	267
2) Туберкулезный менингит . . . . .	267
3) Серозный менингит . . . . .	270
4) Эпидемический энцефалит . . . . .	270
5) Полиомиелит . . . . .	270
6) Острые и хронические инфекции . . . . .	270
7) Абсцесс головного мозга . . . . .	270
8) Опухоли головного и спинного мозга . . . . .	271
9) Цистицеркоз головного мозга . . . . .	271
10) Послеоперационный период при операциях на головном мозгу . . . . .	271
11) Сифилис . . . . .	272
12) Метасифилитические заболевания центральной нервной системы а) Прогрессивный паралич. б) Сухотка спинного мозга. в) Сифи- литический менингит и менингомиелит. г) Гуммы центральной нервной системы . . . . .	272
13) Схемы исследования при различных заболеваниях . . . . .	272

### ОТДЕЛ ТРЕТИЙ

### МОКРОТА

#### Глава первая

#### Макроскопическое исследование

Общие свойства . . . . .	274
1) Суточное количество . . . . .	274
2) Запах . . . . .	275
3) Цвет и прозрачность . . . . .	275
4) Деление на слои . . . . .	275
Характер мокроты . . . . .	275
1) Слизистая мокрота . . . . .	276
2) Слизисто-гнойная и гнойно-слизистая мокрота . . . . .	276
3) Гнойная мокрота . . . . .	276
4) Кровянистая мокрота . . . . .	276
Исследование мокроты на присутствие белка . . . . .	277
Макроскопически видимые патологические элементы . . . . .	277
1) Спирали Куршмана . . . . .	277
2) Зерна актиномикоза . . . . .	277
3) Чечевички или рисовые тельца . . . . .	277
4) Фибриновые свертки . . . . .	277
5) Пробки Дитриха . . . . .	277
6) Дифтеритические пленки из зева и носоглотки . . . . .	278
7) Пузыри эхинококка . . . . .	278
8) Аскариды . . . . .	278
9) Некротизированные кусочки легкого . . . . .	278
10) Кусочки опухоли легких . . . . .	278
11) Инородные тела . . . . .	278

#### Глава вторая

#### Микроскопическое исследование

Приготовление препаратов . . . . .	278
1) Свежие препараты . . . . .	278
2) Фиксированные окрашенные препараты . . . . .	279
Клеточные элементы . . . . .	279
1) Лейкоциты . . . . .	279
а) Нейтрофильные лейкоциты. б) Эозинофилы. в) Лимфоциты. г) Базофилы и моноциты. д) Мегакарициты . . . . .	279



2) Эритроциты . . . . .	281
3) Эпителиальные клетки . . . . .	281
а) Плоский эпителий. б) Цилиндрический эпителий . . . . .	281
4) Альвеолярные клетки . . . . .	281
5) Альвеолярные макрофаги . . . . .	282
6) Жировые шары . . . . .	283
7) Гигантские клетки . . . . .	283
8) Миэлиновые образования в клетках . . . . .	283
9) Опухолевые клетки . . . . .	283
Спираль Куршмана . . . . .	284
Эластические волокна . . . . .	285
Кристаллические образования . . . . .	286
1) Кристаллы Шарко-Лейдена . . . . .	286
2) Кристаллы гематойдина и билирубина . . . . .	286
3) Кристаллы жирных кислот и мыл . . . . .	287
4) Кристаллы холестерина . . . . .	287
5) Кристаллы лейцина и тирозина . . . . .	287
6) Другие кристаллические образования . . . . .	287
7) Тетрада Эрлиха . . . . .	287
Асбестовые тельца . . . . .	287
Животные паразиты . . . . .	289
1) Эхинококк . . . . .	289
2) Легочная дистома . . . . .	289
3) <i>Thomix aegophilus</i> . . . . .	290
4) Аскариды . . . . .	291
5) Простейшие . . . . .	291
Возбудители микотических заболеваний . . . . .	291

### Глава третья

#### Бактериоскопическое исследование

Туберкулезная палочка . . . . .	291
1) Исследование окрашенных мазков . . . . .	291
2) Способы обогащения . . . . .	293
а) Способ всплывания (флотации). б) Способ с антиформинном.	
в) Способ Каган. г) Способ Петрова . . . . .	294
3) Исследование мокроты, добытой промыванием желудка . . . . .	294
4) Исследование слизи из гортани . . . . .	295
Лучистый грибок . . . . .	295
Пневмококк . . . . .	295
1) Этиологическое значение пневмококка . . . . .	295
2) Морфология . . . . .	296
Пневмобацилла Фридендера . . . . .	296
Палочка инфлуэнцы . . . . .	296
1) Этиологическое значение . . . . .	296
2) Морфология . . . . .	296
3) Исследование мокроты . . . . .	297
Другие микроорганизмы, встречающиеся в мокроте . . . . .	297
1) Стрептококк . . . . .	297
2) Стафилококк . . . . .	297
3) Катарральный микрококк . . . . .	297
4) <i>Micrococcus tetragenus</i> . . . . .	297
5) Палочка дифтерии . . . . .	297
6) Спирохеты . . . . .	297

### Глава четвертая

#### Мокрота при различных заболеваниях

1) Острый бронхит . . . . .	298
2) Хронический бронхит . . . . .	298
3) Бронхоэктаз . . . . .	298
4) Бронхиальная астма . . . . .	298
5) Бронхопневмония . . . . .	299
6) Крупозная пневмония . . . . .	299
7) Туберкулез легкого . . . . .	299



8) Абсцесс легкого . . . . .	299
9) Гангрена легкого . . . . .	299
10) Актиномикоз легкого . . . . .	299
11) Злокачественные новообразования . . . . .	299

#### ОТДЕЛ ЧЕТВЕРТЫЙ

#### МОЧА

Общие указания к исследованию мочи . . . . .	300
--	-----

#### Глава первая

#### Физико-химическое исследование мочи

Количество . . . . .	301
Удельный вес . . . . .	301
Цвет . . . . .	303
Прозрачность . . . . .	304
Запах . . . . .	305
Реакция . . . . .	305
1) Качественное определение . . . . .	305
2) Количественное определение . . . . .	305
а) Посредством титрования. б) Определение истинной кислотности мочи. в) Диагностическое значение определения реакции мочи	
Белок . . . . .	309
1) Качественное определение . . . . .	310
а) Проба с сульфосалициловой кислотой. б) Проба с кипячением. в) Кольцевая проба (Геллера). г) Проба с уксусной кислотой и хлористым натрием	
2) Количественное определение . . . . .	311
а) Способ Брандберга. б) Диагностическое значение	
3) Удаление белка из мочи . . . . .	313
Альбумозы . . . . .	313
Уксуснобелковое тело и хондроитинсерная кислота . . . . .	314
Белковое тело Бенс-Джонса . . . . .	315
Виноградный сахар (глюкоза) . . . . .	316
1) Качественное определение сахара . . . . .	316
а) Проба Бенедикта. б) Проба Ниландера. в) Проба Гайнеса. г) Перечень веществ, затемняющих результаты реакций Гайнеса и Ниландера. д) Проба с фенилгидразином. е) Проба с брожением	
2) Количественное определение . . . . .	319
а) С помощью поляризационного аппарата. б) Способ Бенедикта. в) Упрощенное количественное определение сахара. г) Количественное определение сахара по способу Альтгаузена. д) Диагностическое значение	
Фруктовый сахар (левулеза) . . . . .	325
а) Качественное определение. б) Количественное определение. в) Диагностическое значение	
Молочный сахар (лактоза) . . . . .	325
а) Качественное определение. б) Количественное определение. в) Диагностическое значение	
Галактоза . . . . .	326
Пентоза . . . . .	327
Ацетоновые тела и $\beta$ -оксимасляная кислота . . . . .	327
1) Пробы для открытия ацетоуксусной кислоты и ацетона . . . . .	328
а) Проба Ланге. б) Проба Либена	
2) Определение ацетона . . . . .	329
3) Определение ацетоуксусной кислоты . . . . .	330
а) Проба Герхардта. б) Проба Арнольд-Липлявского	
4) Определение $\beta$ -оксимасляной кислоты . . . . .	330
а) Качественное определение. б) Количественное определение. в) Диагностическое значение определения ацетоновых тел	
Желчные пигменты . . . . .	331
а) Проба Гмелина. б) Проба Розина. в) Проба с трихлоруксусной кислотой. г) Проба Гупперт-Сальковского. д) Проба с реактивом Фуше. е) Диагностическое значение	
Желчные кислоты . . . . .	333



а) Проба Гей. б) Проба с пептоном и салициловой кислотой.	
в) Проба с поверхностным натяжением. г) Диагностическое значение.	
Уробилин и уробилиноген . . . . .	333
1) Уробилин . . . . .	333
а) Определение при помощи спектроскопа. б) Проба Нейцкого.	
в) Проба Шлезингера. г) Проба Флоранса	
2) Уробилиноген . . . . .	335
3) Диагностическое значение . . . . .	335
Кровь и кровяные пигменты . . . . .	336
а) Проба Геллера. б) Проба Вебера ван Дена. в) Бензидиновая проба	
Порфирины . . . . .	337
1) Определение уропорфирина . . . . .	337
а) Качественное определение. б) Количественное определение	
2) Определение копропорфирина . . . . .	338
3) Диагностическое значение . . . . .	339
Индикан . . . . .	339
а) Проба Яффе. б) Проба Обермейера. в) Количественное определение. г) Диагностическое значение	
Диазореакция Эрлиха . . . . .	341
Урохромы . . . . .	342
1) Ход определения . . . . .	342
2) Диагностическое значение . . . . .	342
Уророзенин . . . . .	342
Хлор . . . . .	342
1) Способ Мора . . . . .	343
2) Способ Фольгардта . . . . .	344
3) Диагностическое значение . . . . .	345
Фосфаты . . . . .	347
Сера . . . . .	348
Диагностическое значение . . . . .	348
Азот . . . . .	348
Аммиак . . . . .	349
1) Макроспособ определения аммиака . . . . .	350
2) Микроспособ . . . . .	350
3) Диагностическое значение . . . . .	351
Креатинин и креатин . . . . .	351
Диагностическое значение . . . . .	352
Мочевая кислота . . . . .	352
1) Титриметрическое определение по Гопкинсу и Фоллину . . . . .	353
2) Диагностическое значение . . . . .	353
Мочевина . . . . .	357
1) Определение в аппарате Бородина . . . . .	357
2) Определение в аппарате Коварского . . . . .	357
Диастаза . . . . .	357
Аскорбиновая кислота (витамин С) . . . . .	358
Определение витамина В <sub>1</sub> . . . . .	359
Определение токсических веществ . . . . .	361
1) Определение ртути . . . . .	361
2) Определение свинца . . . . .	363
3) Определение мышьяка . . . . .	365
4) Определение фенола . . . . .	367
Лекарственные вещества . . . . .	370
1) Иодистые и бромистые препараты . . . . .	370
2) Салициловые препараты . . . . .	370
3) Антипирин, фенацетин . . . . .	370
4) Пирамидон . . . . .	370
5) Препараты хризофановой кислоты . . . . .	370
6) Сантонин . . . . .	370
7) Танин . . . . .	370
8) Фенолы . . . . .	370
9) Сульфамиды . . . . .	370
10) Висмут . . . . .	371
11) Хинин . . . . .	372



## Глава вторая

### Мочевые осадки

Способы приготовления микроскопических препаратов из мочевых осадков . . . . .	373
Неорганизованные осадки . . . . .	378
1) Осадки кислой мочи . . . . .	378
а) Мочекислые соли. б) Мочевая кислота. в) Щавелевокислый кальций. г) Фосфорнокислый кальций вторичный. д) Гиппуровая кислота. е) Сернокислый кальций (гипс)	
2) Осадки щелочной мочи . . . . .	382
а) Аморфные фосфорнокислые земли. б) Фосфорнокислая аммиак-магнезия. в) Мочекислый аммоний. г) Нейтральная фосфорнокислая известь. д) Углекислый кальций	
3) Редкие осадки, встречающиеся исключительно при заболеваниях . . . . .	383
а) Цистин. б) Ксантин. в) Лейцин и тирозин. г) Жир и жировые кристаллы. д) Холестерин. е) Билирубин и гематоидин. ж) Индиго. з) Кристаллы фенилгликозазона. и) Меланин	
4) Обзор главных химических свойств неорганизованных осадков . . . . .	386
Организованные осадки мочи . . . . .	386
1) Клеточные элементы . . . . .	386
а) Эпителиальные клетки. б) Эпителий мочевых канальцев. в) Лейкоциты. г) Эритроциты	
2) Истинные цилиндры . . . . .	391
а) Гиалиновые цилиндры. б) Эпителиальные и зернистые цилиндры. в) Коматозные цилиндры. г) Восковидные цилиндры. д) Гемоглобиновые цилиндры. е) Цилиндромы. ж) Цилиндры из красных кровяных клеток	
3) Ложные цилиндры . . . . .	394
а) Цилиндры из белых кровяных клеток. б) Цилиндры из уратов. в) Цилиндры из мочекислого аммония. г) Цилиндры из бактерий. д) Слизевые цилиндры. е) Яичковые цилиндры	
4) Загрязнения осадков . . . . .	394
5) Прочие элементы осадка . . . . .	395
а) Уретральные нити. б) Сперматозоиды. в) Элементы новообразований. г) Кристаллы сульфамидных препаратов	

## Глава третья

### Паразиты мочи

1) Животные паразиты . . . . .	397
2) Растительные паразиты (микроорганизмы) . . . . .	398

## Глава четвертая

### Мочевые сrostки или камни

## Глава пятая

### Исследование функциональной способности почек

Физиологические методы исследования функции почек . . . . .	404
1) Проба с разведением и концентрацией . . . . .	405
2) Исследование функции почек по Зимницкому . . . . .	406
3) Нагрузка хлористым натрием . . . . .	407
4) Нагрузка щелочью . . . . .	407
5) Нагрузка мочевиной . . . . .	408
Оценка функции почек по нагрузке чужеродными веществами . . . . .	409
1) Индигокарминовая проба . . . . .	409
2) Проба с фенолсульфонфтаleinом (фенолрот) . . . . .	410
а) При двусторонних процессах. б) При односторонних процессах	
Оценка функции почек по химическому составу крови . . . . .	411
1) Остаточный азот . . . . .	411
2) Мочевина . . . . .	411
3) Мочевая кислота . . . . .	412
Оценка функции почек посредством сравнения состава крови и мочи . . . . .	412
1) Константа Амбара . . . . .	



2) Определение мочевины выделительной функции почек . . . . .	412
3) Креатининовая проба Реберга . . . . .	415
4) Очищение крови от чужеродных веществ . . . . .	416

## Глава шестая

### Гормональные исследования мочи

Биологическое распознавание беременности по Ашгейм-Цондеку . . . . .	418
Количественное определение гонадотропных гормонов . . . . .	421
Определение прегнадиола по Гутерману в видоизменении Г. В. Ордынец . . . . .	422
Определение прегнадиола в модификации А. М. Олышанецкого и Г. М. Эпельбаума . . . . .	423

## ОТДЕЛ ПЯТЫЙ

### ВЫДЕЛЕНИЯ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ

#### Глава первая

##### Отделяемое влагалища

Тесты для определения гормональной функции яичника . . . . .	425
1) Степень чистоты влагалища . . . . .	425
2) Цитологическое исследование влагалищного мазка . . . . .	425
а) Взятие материала и окраска мазков. б) Типы клеток влагалищного мазка. в) Типы реакций . . . . .	427
Животные паразиты влагалища . . . . .	427
1) <i>Trichomonas vaginalis</i> . . . . .	427
2) <i>Enterobius vermicularis</i> . . . . .	428
Патогенные бактерии . . . . .	428
1) Палочка дифтерии . . . . .	428
2) <i>B. crassus</i> . . . . .	428
Патогенные грибки . . . . .	428

#### Глава вторая

##### Семенная жидкость

Собирание материала . . . . .	429
Общие свойства . . . . .	429
Микроскопическое исследование . . . . .	429
1) Сперматозоиды . . . . .	429
2) Другие форменные элементы . . . . .	430
Определение присутствия семени в судебно-медицинской практике . . . . .	431
1) Реакция Флоранса . . . . .	431
2) Реакция Барберии-Чевидалли . . . . .	431

#### Глава третья

##### Возбудители венерических заболеваний

Бледная спирохета . . . . .	432
1) Морфология и биология бледной спирохеты . . . . .	432
2) Взятие материала . . . . .	433
3) Исследование в темном поле зрения . . . . .	434
4) Окраска бледной спирохеты . . . . .	435
5) Дифференциальный диагноз бледной спирохеты . . . . .	436
Гонококк . . . . .	437
1) Морфология . . . . .	437
2) Локализация поражения . . . . .	437
3) Методика исследования . . . . .	438
а) Взятие материала. б) Окраска препаратов. в) Бактериоскопическая картина отделяемого уретры, вагины и цервикального канала . . . . .	440
Стрептобацилла Дюкрей-Унна-Крефтинга . . . . .	441
Паховый лимфогрануломатоз . . . . .	441
1) Реакция Фрея . . . . .	441
2) Реакция Гате-Пацакоста . . . . .	441

Методика исследования  
1) Взятие материала  
2) Микроскопическое исследование  
3) Получение культур  
Патогенные бактерии  
1) Трихомонада  
2) Микроспоридия  
3) Парша  
4) Эпителиома  
5) Поверхностные микозы  
6) Орубевидные микозы  
7) Эритразма  
Глубокие микозы  
1) Блестящие микозы  
2) Споротрихоз  
3) Хромомикоз  
4) Актиномикоз  
Плесневые микозы  
1) Аспергиллез  
2) Отомикоз  
3) Плесневые микозы

Поражение  
Гнойничковые болезни  
Дифтерия кожи  
Сибирская язва  
Сап . . . . .  
Прокказа . . . . .  
Лейшманиоз ко

Поражение  
Чесотка . . . . .

1) К  
2) С  
3) Л  
4) Л

Общие  
1)  
2)



ОТДЕЛ ШЕСТОЙ  
ВОЗБУДИТЕЛИ КОЖНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Глава первая  
Грибковые болезни (микозы)

Методика исследования . . . . .	443
1) Взятие материала . . . . .	443
2) Микроскопическое исследование . . . . .	444
3) Получение культуры грибка . . . . .	445
Поверхностные дерматомикозы и их возбудители . . . . .	446
1) Трихофития . . . . .	446
а) Поверхностная трихофития. б) Глубокая трихофития . . . . .	
2) Микроспория . . . . .	451
3) Парша . . . . .	451
4) Эпидермофития . . . . .	453
а) Паховая эпидермофития. б) Эпидермофития стоп. в) Руброфития стоп и кистей . . . . .	
5) Поверхностные дрожжевые поражения кожи и слизистых оболочек . . . . .	459
6) Огрубевидный лишай . . . . .	461
7) Эритезма . . . . .	462
Глубокие микозы . . . . .	464
1) Бластомикоз . . . . .	464
2) Споротрихоз . . . . .	466
3) Хромомикоз . . . . .	467
4) Актиномикоз . . . . .	467
Плесневые микозы . . . . .	469
1) Аспергиллез легких . . . . .	469
2) Отомикоз . . . . .	470
3) Плесневые онихомикозы . . . . .	470

Глава вторая  
Поражения кожи, вызываемые бактериями и простейшими

Гнойничковые болезни кожи (пидермия) . . . . .	470
Дифтерия кожи . . . . .	470
Сибирская язва . . . . .	471
Сеп . . . . .	471
Проказа . . . . .	471
Лейшманиоз кожи . . . . .	471

Глава третья Поражения кожи, вызываемые паразитами животного происхождения	
Чесотка . . . . .	472

ОТДЕЛ СЕДЬМОЙ  
ИССЛЕДОВАНИЕ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Глава первая  
Рвотные массы

1) Количество . . . . .	473
2) Состав . . . . .	473
3) Цвет . . . . .	473
4) Характер . . . . .	474

Глава вторая  
Желудочное содержимое, полученное посредством зонда

Общие указания к извлечению желудочного содержимого . . . . .	474
1) Преимущества и недостатки толстого и тонкого зондов . . . . .	475
2) Противопоказания к введению зонда . . . . .	476



Исследование содержимого желудка, полученного натощак . . . . .	477
1) Количество . . . . .	477
2) Молочная кислота . . . . .	478
3) Микроскопия . . . . .	478
4) Белок . . . . .	478
Исследование содержимого желудка после пробного завтрака . . . . .	478
А. Одномоментные способы . . . . .	478
1) Общие замечания . . . . .	478
2) Пробный завтрак по Боасу и Эвальду . . . . .	479
Б. Многомоментные способы . . . . .	479
1) Общие замечания . . . . .	479
2) Различные пробные завтраки . . . . .	480
3) Исследование желудка тонким зондом . . . . .	481
4) Испытание функциональной способности желудка по способу Зимницкого . . . . .	481
5) Исследование желудка по Левину . . . . .	481
6) Гистаминовая проба . . . . .	484
В. Исследование извлеченного желудочного содержимого . . . . .	485
1) Количество . . . . .	485
2) Коэффициент расслоения . . . . .	486
3) Химификация . . . . .	486
4) Запах . . . . .	486
5) Цвет . . . . .	486
6) Слизь . . . . .	486
7) Реакция . . . . .	487
8) Свободная соляная кислота . . . . .	487
9) Молочная кислота . . . . .	487
10) Летучие жирные кислоты . . . . .	488
11) Количественное определение кислот в содержимом желудка . . . . .	488
а) Определение истинной кислотности. б) Определение общей титрационной кислотности. в) Определение свободной соляной кислоты. г) Определение связанной соляной кислоты. д) Определение кислотности по Михаэлису. е) Определение дефицита свободной соляной кислоты . . . . .	
12) Определение переваривания углеводов . . . . .	491
13) Определение желчи . . . . .	492
14) Определение крови . . . . .	492
15) Определение пепсина . . . . .	492
а) Качественное определение. б) Количественное определение . . . . .	
16) Определение трипсина . . . . .	493
17) Определение липазы . . . . .	494
18) Определение сычужного фермента . . . . .	494
19) Определение хлора . . . . .	495
20) Хромоскопия желудка . . . . .	496
21) Определение количества остаточного азота в желудочном содержимом . . . . .	496
а) Методика определения. б) Диагностическое значение . . . . .	
22) Микроскопия желудочного содержимого . . . . .	497
а) Крахмальные зерна. б) Мышечные волокна. в) Жир. г) Растительные клетки. д) Эпителий. е) Эритроциты. ж) Лейкоциты. з) Клеточный состав желудочного содержимого. и) Растительные паразиты (микроорганизмы). к) Дрожжи. л) Сарцины. м) Палочки молочнокислого брожения . . . . .	

### Глава третья

#### Содержимое двенадцатиперстной кишки, полученное посредством зонда

Общие замечания . . . . .	501
Техника введения зонда . . . . .	501
Исследование желчи . . . . .	504
1) Общие свойства . . . . .	504
а) Прозрачность. б) Цвет. в) Реакция. г) Количество. д) Удельный вес . . . . .	
2) Белок . . . . .	506
3) Билирубин . . . . .	506
4) Уробилин . . . . .	507
5) Желчные кислоты . . . . .	507
6) Холестерин . . . . .	507
7) Кровь . . . . .	507



8) Микроскопия желчи . . . . .	507
а) Клетки. б) Кристаллы. в) Бактерии. г) Животные паразиты . . . . .	509
Исследование панкреатического сока . . . . .	510
1) Количество жидкости . . . . .	510
2) Определение липазы . . . . .	510
3) Определение диастазы . . . . .	510
4) Определение трипсина . . . . .	512
а) Качественная проба. б) Количественное определение	
5) Масляный завтрак по Болдыреву . . . . .	512

#### Глава четвертая

##### Функциональные пробы печени

Пигментная функция печени . . . . .	514
1) Определение билирубина сыворотки по ван ден Бергу . . . . .	514
а) Качественное определение. б) Количественное определение	
2) Определение по Герцфельду и Бокальчуку . . . . .	518
3) Вычисление билирубинового показателя . . . . .	519
4) Проба с выделением билирубина . . . . .	519
5) Диагностическое значение прямой и непрямой реакции и повышенного количества билирубина . . . . .	520
Проба с нагрузкой галактозой . . . . .	522
Тимоловая проба . . . . .	522
Проба с кефином . . . . .	523
Реакция Таката-Ара . . . . .	524
Реакция Вельтмана . . . . .	525
Образование гиппуровой кислоты (проба Квика) . . . . .	526
а) Нагрузка per os. б) Внутривенная нагрузка	
Определение суммарной функциональной способности печени . . . . .	527

#### Глава пятая

##### Общее исследование каловых масс

1) Состав каловых масс . . . . .	528
2) Собираание материала . . . . .	528
3) Пробная диета . . . . .	529
Микроскопическое исследование . . . . .	529
1. Общие свойства . . . . .	529
1) Количество . . . . .	529
2) Плотность . . . . .	530
3) Форма . . . . .	530
4) Цвет . . . . .	531
5) Реакция . . . . .	531
6) Запах . . . . .	532
2. Отдельные составные части . . . . .	
1) Пищевые остатки . . . . .	532
2) Патологические продукты кишечной стенки . . . . .	532
3) Паразитические черви . . . . .	533
4) Желчные и кишечные камни . . . . .	533
Микроскопическое исследование . . . . .	534
А. Методика исследования . . . . .	534
Б. Отдельные составные части . . . . .	534
1) Пищевые остатки . . . . .	534
а) Мышечные волокна. б) Соединительная ткань. в) Жир. г) Свернувшийся белок. д) Остатки растительной пищи. е) Крахмал	
2) Морфологические элементы кишечной стенки . . . . .	540
а) Эпителий плоский. б) Эпителий цилиндрический. в) Лейкоциты-нейтрофилы. г) Эритроциты. д) Макрофаги. е) Слизь	
3) Кристаллические образования . . . . .	542
а) Фосфорнокислая аммиак-магнезия-трипельфосфат. б) Нейтральный фосфорнокислый кальций. в) Щавелевокислый кальций. г) Билирубин. д) Гематонин. е) Кристаллы Шарко-Лейдена. ж) Холестерин. з) Кристаллы жирных кислот и мыл	
4) Лекарственные вещества . . . . .	544
а) Кристаллы соединений висмута. б) Частицы угля. в) Соли бария. г) Кристаллы сульфонамидных соединений	
5) Детрит (зернистый распад) . . . . .	546
Макро-микроскопическое (копрологическое) исследование испражнений амёбной и бациллярной дизентерии . . . . .	546



## Глава шестая.

### Химическое исследование испражнений

Кровь	547
1) Реакция Деен-Вебера	547
2) Реакция с бензидином	548
3) Реакция с пиридоном	549
Билирубин	549
Желчные кислоты	549
Уробилин (стеркобилин)	549
1) Качественные реакции	549
а) Реакция с сулемой. б) Реакция с уксуснокислым пииком	
в) Спектроскопический способ	
2) Количественное определение	550
а) Приблизительная количественная оценка. б) Количественное определение по Адлеру. в) Количественное определение по Тервену	
Белковые тела (реакция Трибуле)	555
Органические кислоты	556
Аммиак	557
Исследование конкрементов	557
1) Желчные камни	557
2) Каловые камни, кишечные камни и камни поджелудочной железы	558

## Глава седьмая

### Простейшие

Виды простейших, их морфология и жизненный цикл	559
Корненожки — Rhizopoda	560
1) Собираание материала	560
2) Микроскопическое исследование	561
а) Приготовление нативного препарата. б) Способы концентрации цист. в) Приготовление фиксированных окрашенных препаратов. г) Микроскопическое измерение	
Виды амёб	565
1) <i>Entamoeba histolytica</i> — дизентерийная амёба	565
2) <i>Entamoeba dispar</i> — амёба диспар	568
3) <i>Entamoeba Hartmanni</i> — амёба Гартмана	568
4) <i>Entamoeba Moschkowsky</i> — амёба Мошковского	568
5) <i>Entamoeba coli</i> — кишечная амёба	568
6) <i>Endolimax nana</i> — карликовая амёба	571
7) <i>Jodamoeba Bütschlii</i> — иодамёба Бючли	572
Жгутиковые — Flagellata	573
1) <i>Lamblia intestinalis</i> — лямблия	573
2) <i>Trichomonas intestinalis</i> — трихомонас	574
3) <i>Chilomastix mesnili</i> — хиломастикс	574
Споровики — Sporozoa	575
1) <i>Eimeria clupearum</i> и <i>Eimeria sardinae</i>	575
2) <i>Isospora hominis</i> , количественное определение	576
3) <i>Isospora belli</i> Wenyon	576
Ресничные, или инфузории	576
Балантидий	576
<i>Blastocystis hominis</i> — бластоцисты человеческие	577

## Глава восьмая

### Паразитические черви — глисты (гельминты)

Макрогельминтологическое исследование	579
1) Отыскивание мелких глистов	579
2) Отыскивание головки	579
3) Исследование члеников	579
Микрогельминтологическое исследование	580
1) Нативные препараты	580
2) Способы концентрации яиц глистов	580
а) Способ Телемана. б) Способ Фюллеборна. в) Способ Горкиной. г) Способ Калантарян	
3) Способ соскоба	582
4) Способ концентрации личинок	583
Морфология, жизненный цикл и патогенное значение глистов	583
1) Ленточные глисты — цестоды	583
а) Морфология. б) Жизненный цикл	



2) Отдельные представители . . . . .	585
а) <i>Diphyllobotrium latum</i> — лентец широкий. б) <i>Taenia solium</i> — цепень вооруженный. в) <i>Taeniarhynchus saginatus</i> — цепень невооруженный. г) <i>Hymenolepis nana</i> — цепень карликовый. д) <i>Hymenolepis diminuta</i> — цепень крысый. е) <i>Dryhidium caninum</i> — цепень тыквовидный. ж) <i>Echinococcus granulosus</i> — цепень эхинококка . . . . .	592
3) Трематоды (сосальщики) . . . . .	592
а) Морфология. б) Жизненный цикл . . . . .	592
4) Отдельные представители . . . . .	595
а) <i>Fasciola hepatica</i> — двуустка печеночная. б) <i>Dicrocoelium lanceatum</i> — двуустка ланцетовидная. в) <i>Opisthorchis felinus</i> — двуустка сибирская или кошачья. г) <i>Chonorchis sinensis</i> — двуустка китайская. д) <i>Paragonimus ringeri</i> — двуустка легочная. е) <i>Schistosoma Mansoni</i> Sumbon — цистостома Мансона. ж) <i>Nanophytes Schikhobalowa</i> — нанофита Шихобаловой . . . . .	597
5) Круглые глисты . . . . .	608
а) Морфология. б) Жизненный цикл . . . . .	608
6) Отдельные представители . . . . .	608
а) <i>Ascaris lumbricoides</i> — аскарида человеческая. б) <i>Enterobius vermicularis</i> — острица. в) <i>Trichocephalus trichiuris</i> — власоглав. г) <i>Thomina aerophilus</i> . д) <i>Ancylostoma duodenali</i> — анкилостома, кривоголовка двенадцатиперстная. е) <i>Necator americanus</i> — некатор. ж) <i>Trichostongylidae</i> — трихостронгилиды. з) <i>Strongyloides stercoralis</i> — угрица кишечная. и) <i>Trichinella spiralis</i> — трихина. к) <i>Heterodera Marioni</i> — гетеродера Мариони . . . . .	608
7) Личинки мух, яйца клещей и растительные клетки, симулирующие гельминты и их яйца . . . . .	608

## Глава девятая

### Бактериоскопическое исследование

1) Кал новорожденного . . . . .	609
2) Кал взрослого . . . . .	609
3) Иодофильная флора . . . . .	610
4) Плесневые и дрожжевые грибки . . . . .	610
5) Кишечная палочка . . . . .	610
6) Туберкулезная палочка . . . . .	610

### ОТДЕЛ ВОСЬМОЙ

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКССУДАТОВ, ТРАНССУДАТОВ И ЖИДКОСТЕЙ МЕШЕЧЧАТЫХ ОПУХОЛЕЙ (КИСТ)

### Глава первая

#### Экссудаты и транссудаты

Общие свойства . . . . .	612
Химическое исследование . . . . .	612
1) Белок . . . . .	612
2) Реакция Ривальта . . . . .	612
3) Реакция Соханского . . . . .	613
Цитологическое исследование . . . . .	613
1) Приготовление препаратов . . . . .	613
2) Клеточные элементы, встречающиеся в пунктатах . . . . .	614
Бактериоскопическое исследование . . . . .	615
Серологическое исследование . . . . .	615
Дифференциальная характеристика экссудатов . . . . .	615
1) Серозные экссудаты . . . . .	615
2) Серозно-гнийные и чисто гнильные экссудаты . . . . .	616
3) Гнилостные экссудаты . . . . .	616
4) Геморрагические экссудаты . . . . .	616
5) Хилезные, химосоподобные и псевдохилезные экссудаты . . . . .	617

### Глава вторая

#### Содержимое мешеччатых опухолей (кист)

Эхинококковые кисты . . . . .	618
Кисты яичника . . . . .	618
Гидронефроз . . . . .	618
Кисты поджелудочной железы . . . . .	619



### Глава третья Исследование раневого экссудата

Взятие материала . . . . .	619
Окраска мазков . . . . .	619
Изучение цитогамм . . . . .	620
Диагностическое значение появления различных клеточных форм раневого экссудата . . . . .	621

#### ОТДЕЛ ДЕВЯТЫЙ

### ИССЛЕДОВАНИЕ СЕКРЕТОВ И ЭКСКРЕТОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОБРАЗОВАНИЙ

Общие установки при исследовании секретов и экскретов с целью обнаружения клеток злокачественных опухолей . . . . .	624
Исследование мокроты . . . . .	626
Исследование желудочного содержимого . . . . .	629
Исследование мочи . . . . .	631
Исследование жидкостей из серозных полостей . . . . .	633

#### ОТДЕЛ ДЕСЯТЫЙ

### МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В КЛИНИКЕ

Введение . . . . .	636
--------------------	-----

#### Глава первая

### Общие указания к технике бактериологических исследований

Посуда и ее подготовка . . . . .	637
Аппаратура и обращение с ней . . . . .	637
1) Приборы для стерилизации . . . . .	638
2) Инструкция по суховоздушной стерилизации . . . . .	639
3) Инструкция по стерилизации текучим паром . . . . .	639
4) Инструкция по стерилизации в автоклаве под давлением . . . . .	640
5) Свертыватель Коха . . . . .	641
6) Термостат . . . . .	641
7) Анаэро-стат . . . . .	643
Питательные среды . . . . .	644
1) Общие замечания к приготовлению сред . . . . .	644
а) Реакция сред. б) Фильтрование сред. в) Разливка сред . . . . .	647
2) Рецепты и техника приготовления питательных сред . . . . .	647
а) Полуфабрикаты и основные питательные среды из них б) Индикаторы. в) Среда для бактерий кишечной группы. г) Среда для микробов кокковой группы. д) Свернутая кровяная сыворотка для дифтерийных палочек. е) Среда для анаэробов. ж) Среда для туберкулезных палочек. з) Сухие питательные среды . . . . .	660
Техника посева . . . . .	660
1) Посев аэробов . . . . .	661
2) Посевы в анаэробных условиях . . . . .	663
Приготовление микроскопических препаратов . . . . .	665
1) Исследование микроорганизмов в живом состоянии . . . . .	665
а) Исследование в висючей и раздавленной капле. б) Исследование в темном поле зрения . . . . .	666
2) Приготовление окрашенных препаратов и методы окраски . . . . .	670
Собирание и пересылка материала для исследования . . . . .	670
Памятка для работников бактериологических лабораторий . . . . .	671

#### Глава вторая

### Бактериологические исследования

Обнаружение микробов кокковой группы . . . . .	672
1) Стрептококки . . . . .	672
а) Дифференциация гемолитических стрептококков. б) Ход исследования . . . . .	676
2) Стафилококки . . . . .	678
3) Менингококки . . . . .	680
4) Пневмококки . . . . .	680
5) Гонококки . . . . .	680



Обнаружение палочки дифтерии . . . . .	680
1) Взятие материала и посев на сыворотку . . . . .	680
2) Бактериоскопическое исследование . . . . .	681
3) Ускоренный метод . . . . .	682
4) Биохимические свойства . . . . .	682
5) Определение вирулентности (токсигенности) культур . . . . .	683
Обнаружение микробов тифозно-паратифозной группы . . . . .	684
1) Общие указания к исследованию . . . . .	684
2) Методика исследования . . . . .	685
а) Исследование крови. б) Исследование испражнений. в) Исследо- вание мочи. г) Исследование желчи. д) Исследование розеол. е) Выде- ление чистой культуры и ее идентификация. ж) Реакция агглютинации с выделенными культурами . . . . .	693
Обнаружение дизентерийных микробов . . . . .	695
1) Общие указания к исследованию . . . . .	695
2) Материал для исследования, его сбор и консервирование . . . . .	696
3) Посев исходного материала и ход бактериологического исследования . . . . .	698
Ускоренные методы обнаружения патогенных микробов кишечной группы . . . . .	701
1) Ускорение классического метода исследования . . . . .	702
2) Реакция кольцепреципитации с гаптенем . . . . .	703
3) Реакция Предтеченского . . . . .	704
Обнаружение холерных вибрионов . . . . .	704
1) Общие указания к исследованию . . . . .	704
2) Собираание материала . . . . .	704
3) Микроскопическое исследование . . . . .	705
4) Бактериологическое исследование . . . . .	705
5) Холероподобные вибрионы . . . . .	706
Обнаружение анаэробных микробов . . . . .	707
1) Микроскопическое исследование . . . . .	707
2) Методика бактериологического исследования . . . . .	707
Обнаружение туберкулезных палочек . . . . .	709
1) Посев материала . . . . .	714
2) Упрощенный метод выращивания из пунктов . . . . .	715
3) Ускоренные методы . . . . .	715
Обнаружение сибиреязвенных палочек . . . . .	717
1) Собираание материала . . . . .	717
2) Микроскопическое исследование . . . . .	717
3) Посев на питательные среды . . . . .	718
4) Заражение животных . . . . .	718

### Глава третья

#### Определение чувствительности микробов к химиотерапевтическим средствам, определение концентрации пенициллина в крови и моче

Определение сульфамидоустойчивости культур, выделенных от больных . . . . .	719
Определение чувствительности культур к антибиотикам . . . . .	720
Определение концентрации пенициллина в крови и моче . . . . .	721
1) Исследование крови . . . . .	721
2) Исследование мочи . . . . .	721
3) Определение чувствительности стандартного штамма стафилококка к пе- нициллину . . . . .	722
Микрометод определения пенициллина в жидкостях организма . . . . .	723
Модификация Ермольевой и Ведьминой . . . . .	724

### Глава четвертая

#### Серологические исследования при инфекционных заболеваниях

Общие указания к технике серологических реакций . . . . .	725
1) Посуда . . . . .	725
2) Аппаратура . . . . .	725
3) Ингредиенты . . . . .	726
4) Постановка реакций . . . . .	727
а) Реакция агглютинации. б) Реакции преципитации . . . . .	730
Серодиагностика острых кишечных инфекций . . . . .	730
1) Реакция Видаля и ее оценка . . . . .	730
2) Серодиагностика дизентерии . . . . .	732
3) Реакция кольцепреципитации с полным антигеном при брюшном тифе, паратифе и дизентерии . . . . .	732



4) Реакция связывания комплемента . . . . .	733
Серодиагностика сыпного тифа . . . . .	733
1) Реакция Вейль-Феликса . . . . .	733
2) Реакция агглютинации риккетсий . . . . .	735
Серодиагностика бруцеллеза . . . . .	735
1) Реакция Райта . . . . .	735
2) Реакция Хеддльсона . . . . .	735
Серодиагностика туляремии . . . . .	737
1) Реакция агглютинации . . . . .	737
2) Кровяно-капельная реакция . . . . .	737

## Глава пятая

### Биологические методы исследования

Общие указания к методике опытов на животных . . . . .	737
1) Фиксация животных . . . . .	738
2) Техника введения животным заразного материала . . . . .	738
Обнаружение возбудителя туберкулеза . . . . .	740
Обнаружение и типирование пневмококков . . . . .	741
Определение вирулентности и токсичности микробов . . . . .	743
1) Определение вирулентности . . . . .	743
2) Определение фактора распространения . . . . .	745
3) Определение токсигенности . . . . .	747
4) Определение токсичности . . . . .	747

## Глава шестая

### Исследование материала с неопределенным возбудителем

Исследование крови для ранней диагностики лихорадочных заболеваний . . . . .	748
Исследование извержений в крови пострадавших лиц при пищевых токсикоинфекциях . . . . .	748
Исследование крови, раневого отделяемого, гноя, экссудатов и транссудатов . . . . .	752
Исследование отделяемого глаза . . . . .	753
1) Взятие материала . . . . .	753
2) Бактериоскопическое исследование . . . . .	754
3) Бактериологическое исследование . . . . .	754
Испытание на стерильность хирургического материала и на чистоту смывов с предметов, инструментария и т. д. . . . .	756
1) Общие указания к методике исследования . . . . .	756
2) Выемка материала и методика его посева . . . . .	757

## ОТДЕЛ ОДИННАДЦАТЫЙ

### КОЖНЫЕ РЕАКЦИИ

Аллергические кожные реакции . . . . .	759
1) Туберкулез . . . . .	759
а) Реакция Пиркета. б) Реакция Манту. в) Кожно-пластырная проба Волпера . . . . .	761
2) Бруцеллез . . . . .	761
3) Туляремия . . . . .	762
4) Актиномикоз . . . . .	762
5) Эхинококкоз . . . . .	762
6) Трихиноз . . . . .	763
7) Дерматомикозы . . . . .	763
Иммунологические кожные реакции . . . . .	763
1) Реакция Шика . . . . .	763
2) Реакция Дика . . . . .	763
Приложения . . . . .	763
Предметный указатель . . . . .	771

Редактор Л. Г. СМЕРНОВА

Технический редактор А. Гулякова  
Зав. корректорской Л. М. Голицына

А09398. Подп. к печ. 2/VIII 1949 г. Ф. бум. 70×108/16. Зак. 90. Печ. л. 50,25 + вкл. 3,125 п. л.  
Уч.-изд. л. 75,9. МН-52 Знак. в 1 п. л. 38 000. Тир. 50 000. Цена 45 р. 50 к. Переплет 1 р. 50 к.

Первая Образцовая типография имени А. А. Жданова Главполиграфиздата при Совете Министров СССР. Москва, Воровская, 28.  
Отпечатано с матриц в 1-й тип. Трансжелдориздата МПС. Заказ 69.



733  
733  
733  
735  
735  
735  
737  
737  
737

737  
738  
738  
740  
741  
743  
743  
745  
747  
747

748  
фек-  
748  
752  
753  
753  
754  
754  
пред-  
756  
756  
757

759  
759  
проба  
761  
761  
762  
762  
762  
763  
763  
763  
763  
763  
771

А. Г. Голыцкий  
М. Голыцкий  
кл. 3, 125 п. л  
лет 1 р. 50 к.  
Совете Моск.

Опечатка к книге Предтеченский  
Руководство по лабораторной практике.  
В выходных данных не указана цена книги  
в коленкоровом переплете.  
Стоимость книги в коленкоровом переплете  
48 р. 50 к.

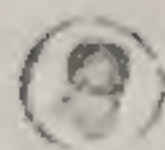
Зак. 69



5000



5000





480.50K.



---

ЛАБОРАТОРНЫЕ  
МЕТОДЫ  
ИССЛЕДОВАНИЯ

---